Beziehungen zwischen Herzglykosidwirkung und Ionenwirkungen am Herzmuskel

Caviezel.

1956

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547620_0135

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Bern

Direktor: Prof. Dr. W. Wilbrandt

Beziehungen zwischen Herzglykosidwirkung und Ionenwirkungen am Herzmuskel

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der medizinischen Fakultät
der Universität Bern

Vorgelegt von

Robert Caviezel

von

Somvix (Graubünden)

Buchdruckerei und Verlag Caviezel Stuttgart — 1956

Von der Medizinischen Fakultät auf Antrag des Herrn Prof. Dr. W. Wilbrandt zum Druck als Dissertation genehmigt.

Bern, den 25. Juni 1956

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät:
Prof. Dr. W. Wilbrandt

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung 5

II. Methodik 8

A. Froschventrikelpräparat 8

1. Präparation 8
2. Apparatur 8
3. Lösungen 11
4. Der Test. Sein Verhalten unter verschiedenen Bedingungen. Quantitative Auswertung 11

a) Experimentelles Vorgehen und Auswertung 11

b) Abhängigkeit des „Tests" von experimentellen Bedingungen 12

c) Der „Wiedererholungseffekt" 15

d) Der Einfluß von Reizpausen 16

e) Reproduzierbarkeit und Reversibilität der Glykosidwirkung 22

f) Glykosidwirkung bei verändertem Ionenmilieu. Quantitative Auswertung 23

B. Ventrikelstreifenpräparat vom Frosch 23

1. Präparation 23
2. Apparatur 23
3. Besonderheiten im Verhalten des Präparates 25
4. Der Test. Sein Verhalten gegenüber der Strophantosidwirkung. Quantitative Auswertung 29

C. Vorhofpräparat vom Meerschweinchen 29

1. Präparation 29
2. Registrieranordnung 29
3. Lösungen 29
4. Besonderheiten des Präparates 30
5. Der Test. Verhalten gegen Strophantosid. Wirkungsmaß 31

III. Resultate 33

A. Abhängigkeit der Strophantosidwirkung von der Kontraktionszahl während der Einwirkung des Glykosids 33

1. Versuche am isotonisch arbeitenden Froschventrikelpräparat 33

2. Versuche am Ventrikelstreifenpräparat 37

B. Abhängigkeit der Strophantosidwirkung von der Konzentration 39

1. Versuche mit höheren Konzentrationen 39

2. Schwelle der Strophantosidwirkung am Ventrikelpräparat 42

C. Reversibilität der Strophantosidwirkung auf den Test 43

D. Abhängigkeit der Strophantosidwirkung von der Kalium- und Calciumkonzentration während der Glykosideinwirkung 44

1. Isotonisch arbeitendes Froschventrikelpräparat 44

2. Meerschweinchenvorhofpräparat 50

IV. Diskussion 52

1. Erfahrungen mit der Methodik des Calciummangeltests 52

2. Die Abhängigkeit der Glykosidwirkung von verschiedenen experimentellen Faktoren 58

V. Zusammenfassung 66

VI. Literatur 63

I. Einleitung

Der Ausgangspunkt der vorliegenden Arbeit liegt in Beobachtungen, die von L é v i (18) bei der quantitativen Untersuchung der Strophantosidwirkung auf das Froschventrikelpräparat gemacht worden sind. L é v i untersuchte die Wirkung von k-Strophantosid mit Hilfe eines Kriteriums, das sich auf die von Otto L o e w i (19) entdeckte Sensibilisierung des Froschherzens gegenüber Calcium unter der Wirkung von Herzglykosiden gründet, nämlich die Verbesserung der Tätigkeit in calciumarmen Lösungen. Dieses Kriterium, das gegenüber anderen den Vorzug rascher, praktisch latenzfreier Reaktion mit guter quantitativer Auswertbarkeit besitzt, wurde von L é v i zunächst in der Weise benützt, daß das elektrisch gereizte Froschventrikelpräparat in calciumarmen Lösungen unter die Einwirkung von Herzglykosiden gebracht und die einsetzende Verbesserung der Spannungsentwicklung registriert und ausgemessen wurde. Später hat B r a w a n d (3) die Anordnung dadurch verbessert, daß er die Einwirkung des Herzglykosids und die als Test benützte Tätigkeit in calciumarmer Ringerlösung zeitlich trennte, womit die Möglichkeit gegeben war, das Herzglykosid in beliebigen Lösungen einwirken zu lassen, die Einwirkungszeit zu variieren und den Test in beliebigen Abständen regelmäßig zu wiederholen, so daß nicht nur der Beginn, sondern auch das Abklingen und der eventuelle Rückgang der Wirkung der Beobachtung zugänglich wurde.

Bei diesen Untersuchungen beobachtete L é v i, daß die Glykosidwirkung sich mit zeitlich begrenzter Geschwindigkeit entwickelt, was zunächst auf das Eindringen des Herzglykosids in die Herzmuskelfaser bezogen werden könnte. Es zeigte sich dann aber, daß bei einer längeren Einwirkung von Herzglykosid in einer kontraktionsfreien Periode die Reaktion des Ventrikelpräparates sich nicht verändert, obwohl dem Herzglykosid genügend Zeit gelassen wurde, in die Faser einzudringen. Unter diesen Umständen entwickelte sich die Wirkung bei Einsetzen der Reizung etwa mit der gleichen Geschwindigkeit, wie wenn jetzt erst das Glykosid zugesetzt worden wäre. Wenn mit Einsetzen der Reizung die glykosidhaltige Lösung gegen glykosidfreie ausgetauscht wurde, so trat nur eine schwache Wirkung ein.

Es zeigte sich danach, daß die Entfaltung der Glykosidwirkung in irgendeiner Weise mit der Tätigkeit des Herzens verknüpft ist. Ob das für diese Verknüpfung wesentliche Element der Herztätigkeit im Erregungsvorgang oder im Kontraktionsvorgang zu suchen ist, blieb zunächst offen.

B r a w a n d hat diese Versuche aufgenommen und quantitativ gestaltet, indem er, mit der wie oben erwähnt verbesserten Methodik, den quantitativen Zusammenhang zwischen Kontraktionszahl während der Einwirkungszeit und der Wirkungs-

intensität des Herzglykosids prüfte. Es ergab sich annähernd lineare Abhängigkeit der beiden Größen.

Außerdem hat Brawand die Abhängigkeit der Wirkung von der Glykosidkonzentration geprüft, wobei die Kontraktionszahl während der Prüfung konstant gehalten wurde. Das Ergebnis war, daß bei Konzentrationen zwischen 0,5 und 2,0 γ/ml Ringerlösung die Glykosidwirkung sich nur wenig ändert, daß also offenbar eine nicht lineare Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung besteht, möglicherweise eine Art Sättigungskurve mit konstanter Wirkungsintensität bei höheren Konzentrationen.

Der Zweck der vorliegenden Arbeit war zunächst, die Brawand'schen Befunde auf andere Versuchsbedingungen auszudehnen und ihre Reproduzierbarkeit unter solchen Bedingungen zu prüfen. Der Übergang zu anderen Versuchsbedingungen sollte vor allem in dem Ersatz der isometrischen durch die isotonische Tätigkeitsform des Herzens liegen. Für die Einführung dieser methodischen Änderung bestand jedoch auch noch ein zweiter Grund, nämlich die Erfahrung, daß die isometrische Tätigkeitsregistrierung gewisse Nachteile besitzt. Experimentell ist es bei den hohen entwickelten Drucken bei isometrischer Tätigkeit des Ventrikels schwierig, ausreichende Dichtigkeit des Präparates zu erzielen und es gehen durch diese Schwierigkeit eine nicht unbeträchtliche Anzahl von Versuchen verloren. Ein weiterer Nachteil der Methode liegt darin, daß der Herzinhalt sich nicht durchmischt und die Lösung nicht mit neuem Sauerstoff in Berührung gebracht wird. Die Bedingungen verschlechtern sich dadurch um so rascher, als auch das mit dem Herzmuskel in Berührung stehende Volumen kleiner ist als bei der isotonischen Anordnung, so daß Stoffwechselprodukte, die ausgeschieden werden, rascher höhere Konzentrationen erreichen.

Als weitere Versuchsobjekte sollten erstens das Streifenpräparat des Froschherzens herangezogen werden in der Hoffnung, durch den Wegfall des Hohlraums und der Enge der Kanüle zu rascherer und wirksamerer Umstellung beim Lösungswechsel zu gelangen, ferner der Meerschweinchenvorhof, um die Beobachtungen auf ein Säugetier auszudehnen.

Die zweite gestellte Aufgabe bestand darin, die Ionenzusammensetzung der Ringerlösung systematisch abzuändern und zu prüfen, ob die Entfaltung der Herzglykosidwirkung durch bestimmte Ionen in charakteristischer Weise beeinflußt werden kann. Diese Fragestellung geht von der Möglichkeit aus, daß die Glykosidwirkung an Ionentransporten angreift. Das Vorgehen folgt den bekannten Untersuchungen von Hodgkin (10—14) und seiner Schule über den Zusammenhang der Erregungsvorgänge am Nerven mit den Ionenverschiebungen durch die Nervenmembran. Die heute allgemein akzeptierte Deutung, daß die Erregung zunächst mit einer starken Steigerung der Natriumpermeabilität einhergeht, wurde zuerst aus der Beobachtung abgeleitet, daß ein quantitativer Zusammenhang zwischen der Natriumkonzentration und verschiedenen Größen des Erregungskomplexes besteht, so vor allem ein linearer Zusammenhang zwischen dem Logarithmus der

Natriumkonzentration und der Höhe des „overshoots". Es sollte nun geprüft werden, ob in ähnlicher Weise für die Herzglykosidwirkung ein Zusammenhang mit bestimmten Ionenkonzentrationen gefunden werden kann, der auf einen Angriff am Transport bestimmter Ionenarten hindeuten könnte.

Daß Herzglykoside Ionentransporte beeinflussen können, ist an anderen Zellen mehrfach gezeigt worden. Schatzmann (24) fand, daß k-Strophantosid und Digitoxin in Konzentrationen von 0,1—10 γ/ml, sowie deren Aglykone eine Hemmung des aktiven Kationentransportes durch die Erythrocytenmembran herbeiführen. Dieser Befund wurde in der Folge von einer Reihe weiterer Autoren bestätigt und weiterverfolgt, so von Glynn (6), Joyce und Weatherall (15), sowie von Kahn und Achesón (16).

Auch am Skelettmuskel wurden Befunde erhoben, die eine Wirkung der Herzglykoside auf Verschiebungen von Natrium und Kalium während der Erholung nachweisen, so von Matchett und Johnson (20), Schatzmann und Witt (25), Witt (30).

Von anderen Beobachtungen ausgehend, nimmt Szent-Györgyi (26) an, daß die Wirkung des Glykosids am Herzen in einer Hemmung des Kaliumeintritts in der Ruhepause besteht und daß die ungünstigen Bedingungen nach einer längeren Arbeitspause, die sich in der sogenannten Bowditch'schen Treppe äußern, in einer Anhäufung von Kalium im Innern der Herzmuskelfaser begründet ist. Hajdu und Szent-Györgyi (8, 9) konnten zeigen, daß die Treppe in kaliumfreier Lösung, wie nach diesen Anschauungen zu erwarten, tatsächlich nicht mehr zustande kommt. Hajdu (7) wies schließlich nach, daß bei jeder Kontraktion Kalium aus dem Zellinnern austritt. Unter physiologischen Bedingungen wird diese Kaliummenge während der Ruheperiode wieder in die Zelle befördert. Er zeigte, daß unter der Wirkung von Herzglykosiden die Gesamtmenge an Natrium und Kalium im Faserinnern abnimmt, und daß parallel dazu der Kontraktionszustand der Muskulatur sich ändert.

Auch für die Untersuchung der Ionenwirkungen wurde das isotonisch arbeitende Froschventrikelpräparat herangezogen. In der Absicht, Anhaltspunkte darüber zu erhalten, ob in bezug auf die Ionenabhängigkeit der Strophantosidwirkung am Säugerpräparat ähnliche qualitative Unterschiede faßbar wären, wie sie sich am Ventrikelpräparat des Frosches gezeigt hatten, wurden orientierende Versuche auch am Meerschweinchenvorhofpräparat durchgeführt.

II. Methodik

A. Froschventrikelpräparat

1. Präparation

Verwendet wurde Rana esculanta. Winterfrösche (im Herbst gefangen) bewähren sich besser als (im Frühjahr gefangene) Sommerfrösche bezüglich Fehlen von Spontankontraktionen. Am besten waren Tiere, die vor der Präparation 8—14 Tage bei 4° C gehalten worden waren. Bei Sommerfröschen sind möglicherweise weibliche Tiere günstiger als männliche.

Nach üblicher Präparation wurde die Plica pro vena bulbi durchtrennt, die Schlinge für die Ventrikelligatur an der AV-Grenze angelegt, die Kanüle durch einen Vorhofschnitt in den Ventrikel eingeführt und die Ligatur fixiert. Um Spontankontraktionen zu vermeiden, mußte die Ligatur möglichst genau an der AV-Grenze liegen, ohne auf Kammer oder Vorhof überzugreifen. Schließlich wurde die Vorhofmuskulatur kauterisiert. Vor Versuchsbeginn blieb das Präparat eine Zeitlang ohne Reizung, wobei aufgetretene Spontankontraktionen gelegentlich von selbst aufhören.

Die Kanülenspitze durfte nicht tief in den Ventrikel reichen, da sonst die Durchmischung zugeführter Lösungen mangelhaft wurde und Kontraktionen sich nicht mehr isotonisch auswirken konnten.

2. Apparatur

Es wurde eine Plexiglaskanüle besonderer Konstruktion verwendet (Abb. 1). In einen dickwandigen Oberteil (Obtl) konnte ein auswechselbarer konischer Spitzenteil (Sp) durch einfache Drehbewegung dicht eingesetzt werden. Die Wandung des Oberteils besaß verschiedene Kanäle (Abb. 1, 2, K) für die Zufuhr von Sauerstoff und zum Absaugen des Kanüleninhaltes. Drei von den Kanälen mündeten in verschiedener Höhe ins Kanülenlumen, was die Einstellung verschiedener Spiegelhöhen erlaubte. Ein weiterer Kanal ermöglichte die vollständige Entleerung der Kanüle bis zur Spitze, da er bei eingesetztem Spitzenteil in eine den Konus desselben umlaufende Ringnute mündete, von der aus ein weiterer Kanal bis an die Kanülenbasis verlief. Diese Anordnung sicherte die Durchgängigkeit des Kanals bis zur Kanülenbasis, sobald der Spitzenteil fest eingedreht war. Eine Innenkapillare (Abb. 1, IK) führte im Zentrum des Kanülenlumens bis an dessen Spitze und diente der Zufuhr von Lösungen. Sie ließ innerhalb der Kanülenspitze genügend Raum,

um den Rückfluß der Lösung aus dem Präparat zu ermöglichen. Eine weitere Bohrung im Oberteil enthielt die Elektrode (Abb. 1, El), deren Platinspitze über einen kurzen Nebenkanal mit dem Kanüleninhalt Kontakt nahm.

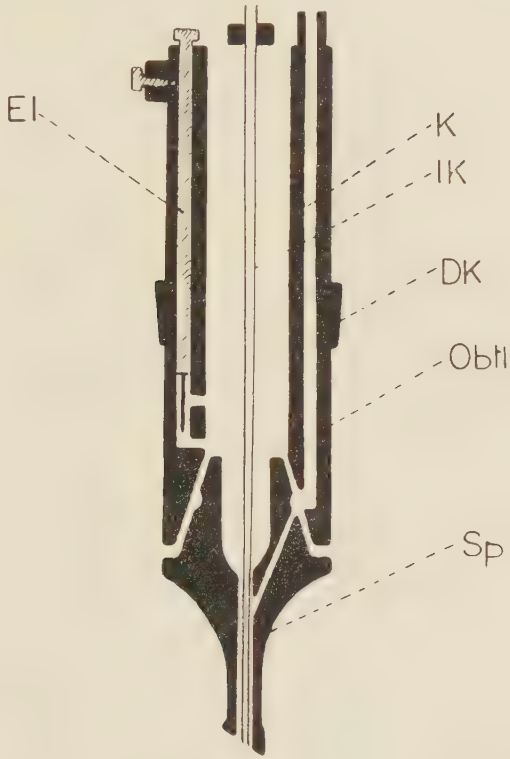

Abb. 1. Kanüle zur Volumregistrierung beim Froschventrikelpräparat. Obtl: Oberteil der Kanüle mit Dichtungskonus DK und Innenkapillare IK. Von den Kanälen K ist der für das Absaugen der Lösungen dargestellt. El: Elektrode. Sp: Auswechselbarer Spitzenteil.

Nach Befestigen des Präparates wurde die Kanüle in ein vollständig mit Ringerlösung gefülltes zylindrisches Gefäß (Abb. 2, AG) eingesetzt. Die Kanüle trug zur Abdichtung einen Konus (Abb. 2, DK). Das Gefäß besaß als Boden eine Gummimembran (Abb. 2, Gm). Bei eingesetzter Kanüle stand der Gefäßinhalt nur noch durch das Steigrohr (Abb. 2, Oe) mit dem Außenraum in Verbindung. Eine weitere Öffnung (EV) am Gefäß diente der Zufuhr von Eichvolumina mittels angeschlossener Tuberkulinspritze (Skala $^1/_{100}$ ml Feineinteilung). Während der Versuche war diese Öffnung durch einen Hahn verschlossen. Eine zweite Reizelektrode (Abb. 2, El) reichte mit ihrer Platinspitze durch die Gefäßwand.

Die Absaugkanäle konnten an die Wasserstrahlpumpe, die Innenkapillare über einen Verteiler an verschiedene Vorratsgefäße angeschlossen werden. So ließen sich auf einfache Art rasche, genau reproduzierbare Milieuänderungen am Präparat vornehmen, ohne Gefahr der Erschütterung für die empfindliche Registrierapparatur.

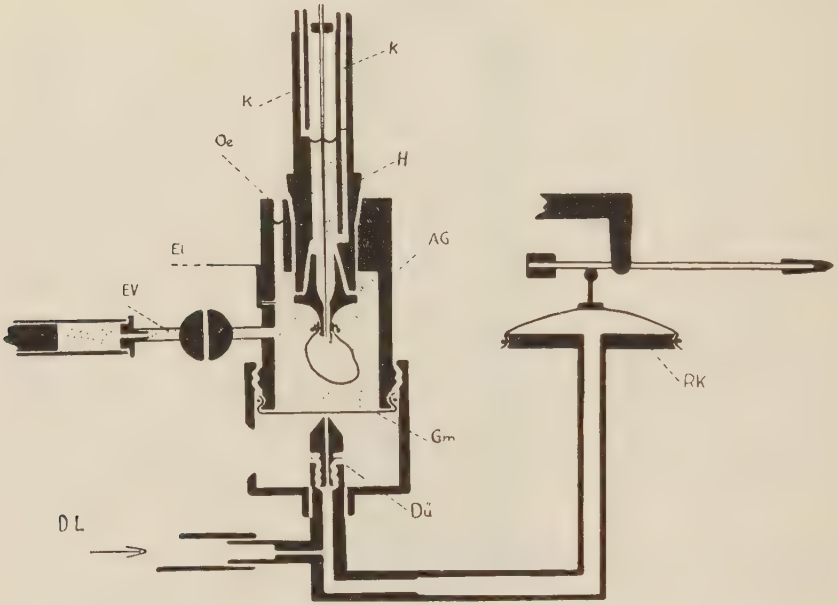

Abb. 2. Anordnung zur Volumregistrierung: Die Kanüle H ist dicht in das Gefäß AG eingesetzt, welches unten mit der Gummimembran Gm verschlossen ist. Verbindung nach außen besteht über die Oeffnung Oe, die die Form eines zylindrischen Steigrohres besitzt. El Elektrode, EV Zufuhr der Eichvolumina, K Kanäle für O_2-Zufuhr und Absaugen auf bestimmte Spiegelhöhe in der Kanülenwand. Die pneumatische Registrierung erfolgt mittels einer an einem Halter befestigten Düse Dü, der über einen Widerstand bei DL Druckluft zugeführt wird. RK Registrierkapsel.

Volumänderungen des Ventrikels mußten sich in einer Spiegelverschiebung im Steigrohr äußern, die ihrerseits den auf der Gummimembran lastenden Flüssigkeitsdruck und damit deren Dehnung veränderten.

Die Volumschwankungen wurden von einer pneumatischen Registrieranordnung (28), bestehend aus Druckluftzufuhr (DL) und Düse (Dü), auf die Registrierkapsel (Rk) geleitet und von dieser auf ein Rußkymographion aufgezeichnet.

Die Anordnung konnte bei ruhendem Ventrikel durch Zufuhr entsprechender Volumina in das Außengefäß geeicht werden. Meist genügten Stufen von 0,05 ml, während Zwischenwerte aus der erhaltenen Eichkurve abgelesen wurden.

Während der Arbeit waren die Präparate einem Druck von ca. 2,5 cm H_2O ausgesetzt, der sich während der Kontraktion um wenige mm änderte.

Mit der freien Einmündung der Reizelektroden in die Lösungen innerhalb der Kanüle und des Außengefäßes wurde ein schonender, regelmäßiger Reizeffekt erreicht. Die Häufigkeit unerwünschter Spontankontraktionen wurde dadurch vermindert. Der Reizstrom (Kondensatorentladung) wurde den Elektroden alle 6 Sekunden über einen Widerstand von 1000 Ohm (um den Gesamtwiderstand von Widerstandsschwankungen im Präparat unabhängig zu machen) zugeleitet. Jede 10. Reizung fiel aus. Die Ladespannung wurde über Regeltransformer und Gleichrichter aus dem Netz genommen.

3. Lösungen

Als Nährlösung wurde die von v. Muralt (22) angegebene gepufferte „Ringerlösung für Muskelversuche" verwendet. Versuchslösungen, die Ca- oder K-Ionen in verminderter oder erhöhter Konzentration enthielten, erfuhren keinen Ausgleich ihrer Gesamtkonzentration, da die verursachten Abweichungen nur sehr gering waren. Ionenkonzentrationen dieser Lösungen werden im Folgenden ausgedrückt in Prozent der Konzentration des entsprechenden Ions in der normalen Ringerlösung.

Alle Glykosidversuche wurden mit k-Strophantosid (Strophosid „Sandoz") durchgeführt. Die Ampullenlösung wurde den Versuchslösungen anstelle einer gleichen Menge Aqua destillata zugesetzt.

4. Der Test. Sein Verhalten unter verschiedenen Bedingungen. Quantitative Auswertung.

a) Experimentelles Vorgehen und Auswertung:

Grundsätzlich wurde das Vorgehen Brawand's für die Untersuchung des Einflusses verschiedener Lösungen auf die Ventrikelarbeit übernommen. Dieses Vorgehen ist aus Abb. 3 ersichtlich.

Das in normaler Ringerlösung (NRL) arbeitende Ventrikelpräparat erhielt als Testlösung (T) eine calciumarme Ringerlösung zugeführt, wonach sich innert weniger Kontraktionen ein erniedrigtes systolisches Niveau einstellte, das gewöhnlich einen allmählichen Wiederanstieg zeigte (Wiedererholungseffekt). Nach einer bestimmten Zeit wurde dem Präparat anstelle der NRL die zu prüfende Lösung gegeben (in Abb. 3 z. B. 0,3 γ Strophantosid/ml in NRL) und nach bestimmter Zeit und Kontraktionszahl erneut gegen die Testlösung ausgetauscht.

Die Abhängigkeit der Amplitude von der Calciumkonzentration der „Testlösung" ist in Abb. 4 zu erkennen. Verwendet wurden meist Konzentrationen von 10 %, gelegentlich 15 % oder 20 %.

Abb. 3. Versuchsbeispiel zur Verwendung calciumarmer Ringerlösung (T, 10 % $CaCl_2$ der normalen Ringerlösung, NRL) als Test der Glykosidwirkung. Froschventrikelpräparat Volumregistrierung. Zwischen den Signalen Einwirkung von Strophantosid, links in normaler Ringerlösung, rechts in calciumreicher Ringerlösung verabreicht. Reizintervall 6 sec. bei Fehlen jedes 10. Reizes. Abstand der Eichlinien 50 mm³. Während des Lösungswechsels (je eine Minute) wurde die Registrierung unterbrochen, außer bei Ein- und Ausspülen von Strophantosidlösung.

Das während des ersten Testes nach einer bestimmten Anzahl Kontraktionen in TL erreichte Auswurfvolumen, gemessen in Bruchteilen des vorher in NRL erreichten Volumens (Relatives Volumen, RV_1), konnte nun verglichen werden mit dem beim zweiten Test nach derselben Anzahl Kontraktionen in TL erreichten, wieder gemessen in Bruchteilen des in NRL vorher erreichten (RV_2). Die Differenz der beiden Verhältniszahlen in Prozent des RV_1 ist ein vergleichbarer Wert für den Einfluß der zu prüfenden Lösung auf den Test. Er wurde als prozentuale Wirkung (W, Δ %) bezeichnet:

$$W = \Delta\,\% = \frac{RV_2 - RV_1}{RV_1} \cdot 100$$

Bei Verwendung des Wirkungsmaßes war zu beachten, daß nicht ohne weiteres eine lineare Abhängigkeit der RV-Zunahme nach gleichen Glykosidgaben von den vorher bestehenden RV-Werten erwartet werden durfte. Tatsächlich fanden sich bei Vergleich der prozentualen Wirkungen gleicher Strophantosidgaben, die von 16 verschiedenen Präparaten, mit unterschiedlichen RV vor der Verabreichung, erhalten worden waren, nicht unbeträchtliche Abweichungen. Aus diesem Grund schien es zweckmäßig, auch die unveränderten Differenzen der RV vor und nach Zufuhr der Versuchslösungen zu beachten, wenn sich innerhalb einer Versuchsreihe größere Unterschiede des RV ergaben.

b) Abhängigkeit des „Tests" von experimentellen Bedingungen.

Brawand mußte bei seinen Untersuchungen eine größere Anzahl von Versuchen mitteln, um zu signifikanten Werten zu kommen, da eine nicht unbeträchtliche Streuung der Einzelwerte vorlag. Um bessere Voraussetzungen zu erhalten

und bei korrigiertem Vorgehen eindeutige Ergebnisse auch innerhalb einzelner Versuche zu bekommen, waren vorgängig der eigentlichen Aufgabe verschiedene Einflüsse methodischer Art auf den Test zu klären.

aa) Gelegentliche deutliche Unterschiede in der scheinbaren Empfindlichkeit verschiedener Präparate auf dieselbe Testlösung fielen auf. Es zeigte sich, daß es sich zum Teil um methodische Variationen handelte. Häufige Fehlerquelle war ein zu tiefes Eindringen der Kanüle in den Ventrikel. Dadurch mußte die sonst fast völlige Entleerung des Präparates während der Arbeit in NRL verhindert werden. Die Herzarbeit wurde gegen Ende der Kontraktion isometrisch. Relativ zu große Auswurfvolumina in der Testlösung und scheinbar geringe Empfindlichkeit ihr gegenüber waren die Folge.

Abb. 4. Abhängigkeit der Kontraktionsamplitude vom Calciumgehalt der Ringerlösung. Froschventrikelpräparat, Volumregistrierung. Reizintervall 6 sec. bei Fehlen jedes 10. Reizes.

bb) Kontrollversuche zeigten, daß das Einbringen des Präparates in ein Außenmedium von NRL während der Versuche keinen Einfluß auf die Wirkung ionengeänderter Lösungen im Innern des Präparates ausübt. Offenbar bestehen große Durchlässigkeitsunterschiede zwischen Endo- und Epicard.

cc) Auch dem Vorgehen beim Lösungswechsel kam großer Einfluß auf das RV zu. Bei entsprechenden Versuchen zeigte sich eine Abhängigkeit von der zum Ausspülen verbrauchten Lösungsmenge (im Versuch der Abb. 5 nahm z. B.

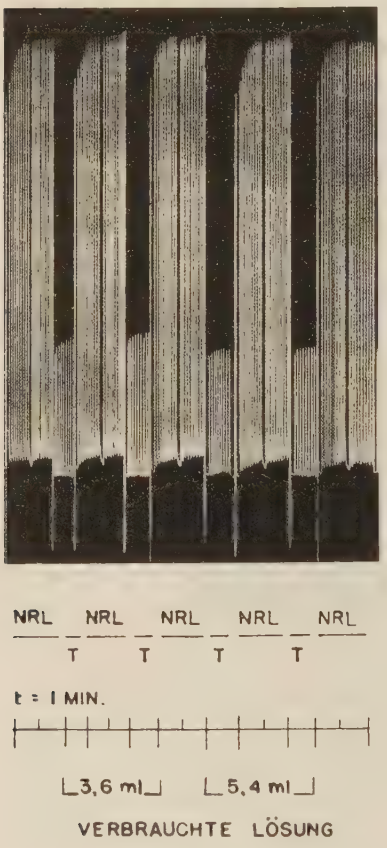

Abb. 5. Abhängigkeit der Amplitude in calciumarmer Ringerlösung von der Spülintensität. NRL: normale Ringerlösung, T: calciumarme Testlösung (10 % Ca der NRL). Die beim Lösungswechsel verbrauchte Menge Testlösung betrug bei den ersten beiden Testen 3,8 ml, bei den folgenden 5,4 ml. Das RV änderte sich zwischen dem 2. und 3. Test um ca 9 %. Ventrikelpräparat, Volumregistrierung.

infolge Vermehrung der verbrauchten Lösungsmenge von 3,6 ml auf 5,4 ml das RV um 8,9 % ab), von der während der Spülung ausgeführten Zahl von Kontraktionen, von dem auf der Innenkapillare lastenden Druck und besonders auch von der Einstellung der Innenkapillare.

c) Der „Wiedererholungseffekt"

Während der Einwirkung calciumarmer Lösungen auf das Präparat konnte der von Loewi (19), Böhm (2), Arima (1), Lévi (18), Brawand (3) beobachtete „Wiedererholungseffekt" (WE) ebenfalls festgestellt werden. Er besteht in einem allmählichen Wiederanstieg der Kontraktionsamplitude in Anwesenheit von calciumarmer Ringerlösung. Der Effekt zeigte sich am isotonisch arbeitenden Präparat allerdings weniger ausgesprochen als am isometrisch arbeitenden Ventrikel Brawands.

Der allmähliche Anstieg des Auswurfvolumens mußte bei der Auswertung des RV zu verschiedenen Zeitpunkten seit Zufuhr der TL zu differenten Werten von RV führen. Wir versuchten daher, einige Erfahrungen über das Verhalten dieses WE zu sammeln.

Kontrahierte sich der Ventrikel während der Einspülung der Testlösung nicht, so fehlte der Effekt meist (Abb. 6). In diesem Fall sank das systolische Volumen allmählich auf einen konstanten Wert. Bei höheren Konzentrationen der TL war der Effekt geringer (Abb. 4). Er nahm auch mit zunehmender, bei der Einspülung verbrauchter Menge an Testlösung und mit zunehmender Spüldauer ab, ebenso mit steigender Anzahl der in regelmäßiger Folge verabreichten Tests (Abb. 7).

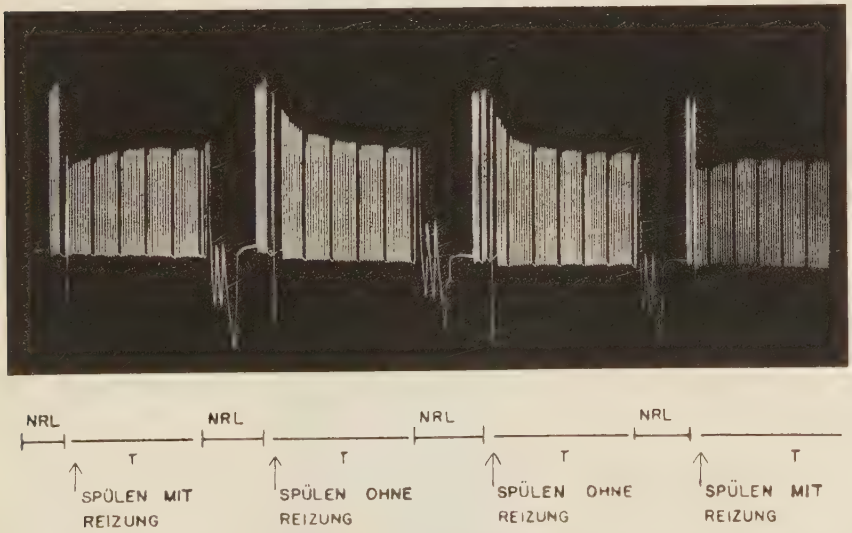

Abb. 6. Einwirkung mangelhafter Durchmischung des Herzinhaltes mit der zugeführten Testlösung (T, 15 % Ca der normalen Ringerlösung, NRL) auf das RV in der Testlösung. Kontrahiert sich das Präparat während des Lösungswechsels, so fällt die Amplitude rasch, um sich allmählich zu erholen. Bei fehlender Kontraktion umgekehrt langsamer Abfall auf dasselbe Niveau. Froschventrikel, Volumregistrierung.

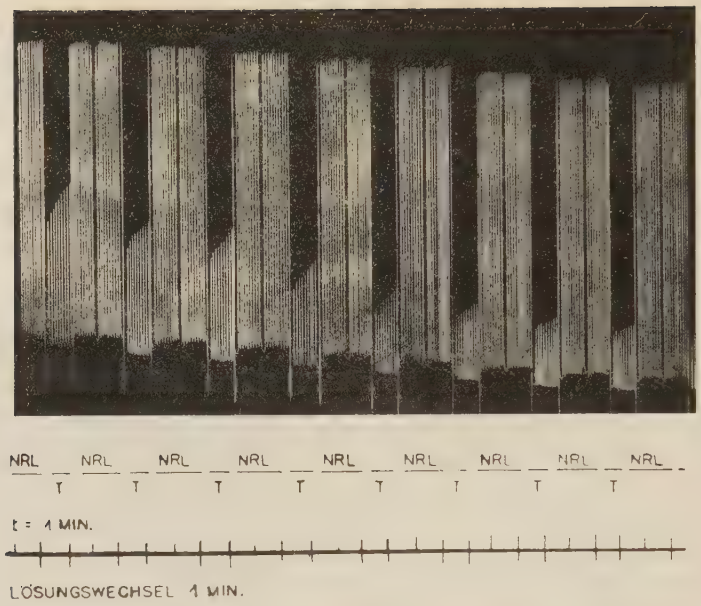

Abb. 7. Verhalten des Wiedererholungseffektes bei periodischer Verabreichung calciumarmer Testlösung. NRL: normale Ringerlösung, T: Lösung mit 10 % $CaCl_2$ der NRL. Reizintervall 6 sec. bei Fehlen jedes 10. Reizes. Ventrikelpräparat, Volumregistrierung. Während des Lösungswechsels (1 Minute) wurde nicht registriert.

Bei sehr niedriger Reizfrequenz ist der WE vermindert (Abb. 8). Ein Überschneiden mit dem Bowditch'schen Treppenphänomen ist dabei anzunehmen. Häufig war zu beobachten, daß der nach einer Reihe von Tests wenig deutlich gewordene WE nach der Einwirkung von Strophantosid wieder verstärkt auftrat.

Einzelne Versuche sprechen dafür, daß durch die angeführten Faktoren sowohl die Anstiegsgeschwindigkeit als auch das endgültig erreichte Niveau bei der Änderung des WE beeinflußt werden, doch kann dies wegen der meist kurzen Einwirkungszeit der Testlösung nicht mit Sicherheit festgestellt werden.

Mit der Anzahl der an einem Präparat durchgeführten Tests verschwand nicht nur der WE, es stellten sich auch niedrigere Minima des RV ein (Abb. 7). Dies war um so deutlicher, je kürzer die dem Präparat zwischen den einzelnen Gaben von TL zur Erholung in NRL gewährte Zeitspanne gehalten war. Im selben Sinn zeigte sich auch die Erholungsgeschwindigkeit in NRL von dem während des Tests erreichten Abfall des Auswurfvolumens abhängig.

d) Der Einfluß von Reizpausen.

Für die Untersuchungen über die Abhängigkeit der Strophantosidwirkung von der Kontraktionszahl sollte dem gleichen Präparat mehrere Male Strophantosid

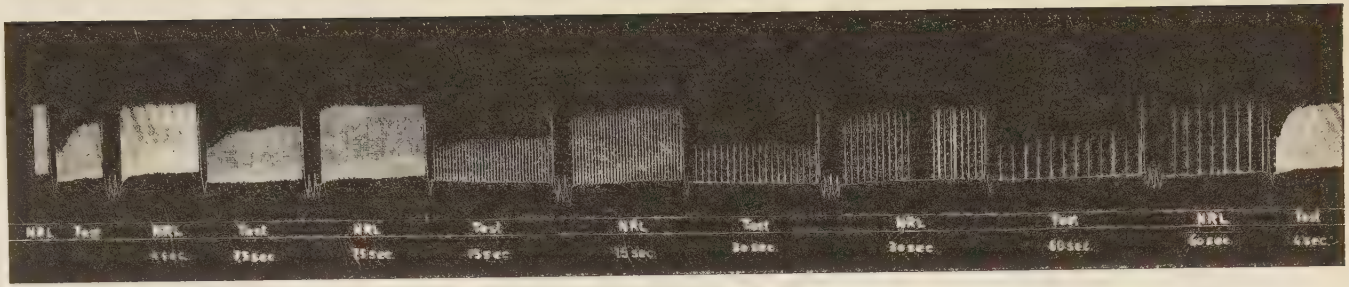

Abb. 8. Abhängigkeit des Wiedererholungseffektes von der Reizfrequenz. Das Ventrikelpräparat arbeitete abwechselnd in normaler Ringerlösung (NRL) und calciumarmer Testlösung (Test). Die Reizintervalle sind angegeben. Volumregistrierung.

angeboten werden. Während die Einwirkungszeit bei den sich folgenden Applikationen konstant zu halten war, sollte der Ventrikel eine verschiedene Zahl von Kontraktionen ausführen. Dies ergab bei den niedrigen Kontraktionszahlen eine Arbeitspause während der Einwirkungszeit des Glykosids (nicht dagegen bei den Untersuchungen über die Konzentrationsabhängigkeit und Variation der Ionenzusammensetzung. Außer der Dauer der Einwirkung war hier auch die Zahl der Kontraktionen konstant).

Das Verhalten des Tests bei dem beabsichtigten methodischen Vorgehen mußte geprüft werden (siehe Kontrollversuche 1, 2, 23. Abschnitt III A, Tab. V). Es ergab sich (s. dort), daß die Arbeitspause die Amplitude im Test in einem Ausmaß senkt, das eine Korrektur notwendig macht.

e) Reproduzierbarkeit und Reversibilität der Glykosidwirkung.

Um auf eine Änderung des Wirkungsgrades im Verlauf mehrerer Applikationen derselben Glykosiddosis am gleichen Präparat zu prüfen, wurden folgende Versuche (21 und 22) ausgeführt:

Versuch 21. Versuchsanordnung (s. Abb. 9): Abwechselnd erhielt das Präparat 3 Min. NRL und während der folgenden 2 Min. TL (10 % Calcium). Jeweilen in der ersten Minute wurde die Lösung gewechselt, wozu für die NRL 5,4 ml, für die TL 3,6 ml Lösung verbraucht wurden. Nach mehreren Tests, nachdem das relative Volumen konstant geworden war, erhielt das Präparat, nach 3 Min. NRL, bei unterbrochener Reizung die strophantosidhaltige Ringerlösung (0,3 γ/ml) zugeführt. Bei der Einspülung wurden 3,6 ml Lösung verbraucht. Nach beendigtem Lösungswechsel (1 Minute) verblieb die Lösung weitere 2 Minuten, während denen das Herz 16 Kontraktionen ausführte. Danach wurde wiederum TL gegeben, abwechselnd mit NRL wie vorher. Insgesamt 4 Applikationen der Strophantosidlösung im Abstand von 5—6 Tests. Das Ergebnis zeigt Tabelle I.

Applik. Nr.	RV_1 vor Stroph.	RV_2 nach	$RV_2 - RV_1$	W
1	0,29	0,38	0,09	30,0 %
2	0,31	0,37	0,06	20,0 %
3	0,31	0,36	0,05	13,5 %
4	0,33	0,37	0,04	11,5 %

Tabelle I

Versuch 22. Versuchsanordnung (s. Abb. 10): Wie bei Versuch 21. Die Glykosidlösung verblieb jedoch nach dem Lösungswechsel (1 Minute) nur noch eine weitere Minute im Herzen, und das Präparat führte während der Einwirkungszeit nur

bb. 9. Änderung des Wirkungsgrades im Verlauf aufeinanderfolgender Strophantosid-Applikationen. Froschventrikelpräparat. Versuch 21, S. 18. Über der Zeitskala Darstellung des Versuchsablaufs und Verhalten der relativen Volumina in Testlösung. Darunter die Wirkung der aufeinanderfolgenden Glykosidgaben (0,3 γ Strophantosid/ml).

4 Kontraktionen aus. Insgesamt erhielt es 12 Applikationen von Strophantosid. Bei Applikation 1—4 wurde TL mit 10 % Calcium verwendet, wobei zum Lösungswechsel insgesamt 3,6 ml Lösung verbraucht wurden. Bei Applikation 5—8 enthielt die TL 15 % Calcium, die beim Wechsel verbrauchte Lösungsmenge betrug ebenfalls 3,6 ml. Bei Applikation 9—12 enthielt die TL wieder 15 % Calcium, es wurden jedoch 9 ml Lösung beim Lösungswechsel verbraucht. Glykosidapplikationen erfolgten in halbstündigen Abständen mit zwischengeschalteten Tests. Die Resultate zeigt Tab. II.

Applik. Nr.	RV_1 vor Stroph.	RV_2 nach	$VR_2 - RV_1$	W
1	0,192	0,235	0,043	22,1 %
2	0,201	0,233	0,032	15,6 %
3	0,221	0,233	0,012	5,4 %
4	0,254	0,258	0,004	1,6 %
5	0,399	0,455	0,056	14,2 %
6	0,440	0,493	0,053	11,9 %
7	0,495	0,55	0,055	11,1 %
8	0,55	0,596	0,046	8,4 %
9	0,506	0,57	0,064	12,7 %
10	0,555	0,602	0,047	8,5 %
11	0,598	0,638	0,040	6,7 %
12	0,621	0,662	0,041	6,6 %

Tabelle II

Die Versuche 21 und 22 zeigen deutlich, wie die Glykosidwirkung auf das relative Volumen mit der Anzahl der Applikationen abnimmt (Abb. 10). Anhaltspunkte bestehen für die Annahme, daß die Empfindlichkeitsabnahme des Tests gegenüber Strophantosid geringer ist, wenn der Ca-Gehalt der Testlösung höher ist.

Diese im Verlauf der Vorversuche gewonnenen Ergebnisse verlangten Berücksichtigung im methodischen Vorgehen bei den beabsichtigten Experimenten. Einzuhaltende Bedingungen waren:

Möglichst zahlreiche Testphasen vor dem eigentlichen Versuch; Wahl einer günstigen, konstanten Erholungsdauer in NRL zwischen den Tests; gleichmäßige Verweildauer der Testlösung; intensives Spülen beim Lösungswechsel mit gleichen Lösungsmengen und konstantem Einlaufdruck während konstanter Spüldauer; Wahl einer Ca-Konzentration für die Testlösung mit 10—15 % des Ca-Gehaltes der NRL; konstantes Kontraktionsintervall unter Ausschluß spontan arbeitender Ventrikelpräparate.

b. 10. Änderung des Wirkungsgrades im Verlauf aufeinanderfolgender Glykosidgaben unter verschiedenen Bedingungen. Froschventrikelpräparat. Versuch 22, S. 18. Über der Zeitskala Versuchsablauf, halbschematisch unter Verwendung der gemessenen relativen Volumina in Testlösung. Darunter die Wirkungen der aufeinanderfolgenden Glykosidgaben (0,3 γ Strophantosid/ml).

Beim Auswerten war darauf zu achten, daß das Präparat vor der ausgemessenen Kontraktion in TL bereits eine gewisse Zeit in dieser gearbeitet hatte, und daß für alle Tests Kontraktionen gleichen Abstands vom Beginn der Zufuhr von TL an ausgemessen wurden. Die in ihrem Einfluß auf die Arbeit des Präparates in der TL zu untersuchenden Lösungen wurden erst dann zugeführt, wenn drei vorausgegangene Tests konstantes RV ergeben hatten.

Der Empfindlichkeitsabnahme des Tests auf Glykosid im Verlauf mehrerer Applikationen war schwierig zu begegnen. Die zeitlichen Abstände zwischen den Glykosidgaben wurden soweit als möglich ausgedehnt. Für die Bewertung der Kontraktionszahl- und Konzentrationsabhängigkeit der Glykosidwirkung wurde außerdem das Ergebnis einer gleichen Anzahl Versuche in an- und absteigender Reihenfolge berücksichtigt.

In den Versuchen über die Abhängigkeit der Glykosidwirkung von der Kontraktionszahl wurden die Kontraktionen während der reizarmen Perioden an deren Ende verlegt. Der in den Kontrollversuchen 1, 2, 23 (Abschnitt III, A) festgestellte Effekt der reizarmen Perioden auf das relative Volumen (Abb. 17) sollte dadurch verkleinert werden. Außerdem wurde zwischen der Glykosidlösung und erstem Test nochmals während kurzer Zeit NRL zugeführt. Dieses Vorgehen konnte jedoch offenbar die Wirkung der reizarmen Periode nicht beseitigen.

f) Glykosidwirkung bei verändertem Ionenmilieu. Quantitative Auswertung.

Bei den Untersuchungen über die Abhängigkeit der Glykosidwirkung von der Ionenkonzentration wurde wie in den vorausgegangenen Versuchen die Änderung des relativen Volumens in calciumarmer Testlösung bestimmt. Das Glykosid wurde außer in normaler Ringerlösung auch in calciumarmer, in kaliumarmer, in calciumreicher und kaliumreicher Ringerlösung verabreicht. Außerdem wurde die Wirkung solcher ionengeänderter Lösungen ohne Glykosidzusatz vergleichsweise geprüft. Im folgenden wurde glykosidhaltige Ringerlösung normaler Ionenzusammensetzung mit S, glykosidfreie Ringerlösung abgeänderter Ionenzusammensetzung mit I und ebensolche glykosidhaltige Lösung mit IS bezeichnet.

Für die Auswertung der Versuche war zu berücksichtigen, daß unter gewissen Bedingungen das RV des Tests bereits durch die Ionenkonzentrationsänderung beeinflußt wurde. Diese Wirkung der Ionenkonzentration mußte von der Wirkung des Strophantosids in geänderter Ionenkonzentration in geeigneter Weise in Abzug gebracht werden. Als Maß für die Änderung der Strophantosidwirkung durch die veränderte Ionenzusammensetzung wurde das Verhältnis

$$R = \frac{D_{is}}{D_i + D_s}$$

gewählt, worin als Wirkungen D die Differenzen der RV der Tests vor und nach Applikation der Versuchslösungen eingeführt sind (D_i ionengeänderte Lösung, D_S Strophantosid in NRL, D_{is} Strophantosid in ionengeänderter Lösung).

B. Ventrikelstreifenpräparat vom Frosch

1. Präparation

Im Frühjahr gefangene Ranae esculentae wurden verwendet. Von dem in Ringerlösung verbrachten Herzen wurde aus dem Ventrikel durch zwei Scherenschläge ein Muskelring abgetrennt, der nicht zu viel von der Herzspitze, aber doch nichts von der AV-Grenze behalten durfte. Zu nahe an der AV-Grenze entnommene Präparate schlugen spontan. Nach Öffnen des Ringes an der dünneren Wandseite konnte der entstandene Streifen durch Fadenschlingen zwischen den im Folgenden beschriebenen Elektroden befestigt werden.

Die verwendeten Lösungen waren dieselben wie bei den Versuchen am Ventrikelpräparat.

2. Apparatur

Für die Registrierung der Muskelkontraktion wurde eine Anordnung verwendet, die von Wilbrandt, Ryser und Witt (29) zur Spannungsregistrierung bei Untersuchungen über die mechanischen Eigenschaften der Rattenschwanzsehne benützt wurde und die für diese Versuche etwas geändert worden war (Abb. 11). Der Muskelstreifen wurde senkrecht zwischen zwei hakenförmige Platinelektroden ($El_{1,2}$) aufgehängt, von denen die tiefere fest angeordnet, die höhere beweglich über einen Glasfaden (Glf) mit einem Plexiglasrahmen (Ra) verbunden war, der über die Rolle (Ro) einem Gewichtszug von ca. 850 mg (Gw) unterworfen war. Je stärker sich bei der Kontraktion des Präparates der Rahmen nach unten bewegte, um so mehr verschloß er mit einer an ihm befestigten Kugelfläche die Öffnung der Düse (Dü) einer pneumatischen Registrieranordnung (Druckzuleitung über Widerstand W, Düse D, Registrierkapsel Rk und Schreibhebel Sr). Die (nicht rein isometrische) Arbeit des Präparates wurde auf ein Kymographion aufgezeichnet. Das Präparat war in einem Gefäß (Sg) aufgehängt, dessen Nährlösung über die Glasröhrchen z_1 und z_2 ausgetauscht und mit O_2 durchperlt werden konnten. Eine Eichung der Anordnung war möglich durch Anhängen von Gewichten anstelle des Präparates. Die Reizanordnung entsprach der beim Ventrikelpräparat.

3. Besonderheiten im Verhalten des Präparats

a) Auffällig war die im Verhältnis zum Ventrikelpräparat sehr viel größere Empfindlichkeit gegenüber O_2-Mangel, der viel rascher zu Unterschieden in der Kontraktionsgröße führte.

b) Beim Lösungswechsel war eine deutliche Neigung der Präparate zu systolischem Spannungsanstieg zu beobachten, wenn sie, ohne von Lösung umgeben zu sein, gereizt wurden. Lösungswechsel wurden daher bei unterbrochener Reizung durchgeführt.

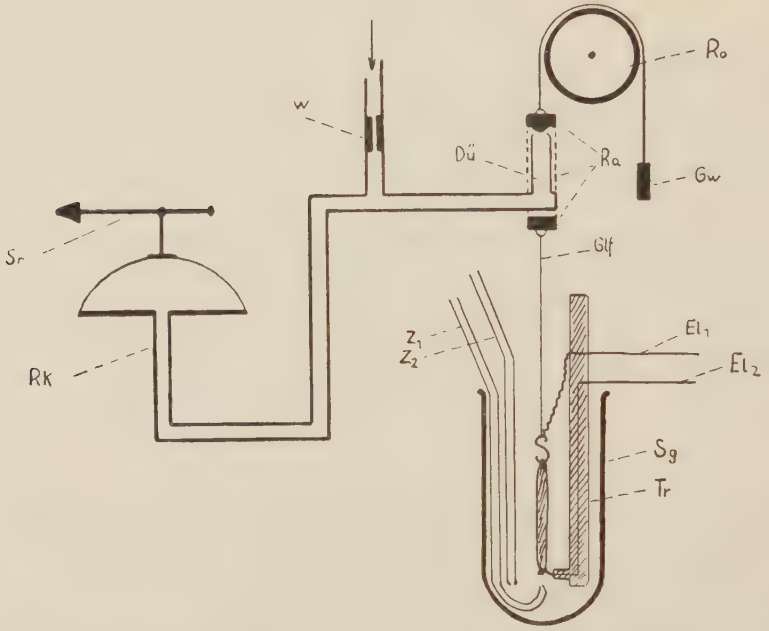

Abb. 11. Registrieranordnung für das Ventrikelstreifenpräparat. Tr Präparathalter mit Elektrode (El_2). Sg Gefäß für Ringerlösung und Präparat mit Röhrchen Z_1, Z_2, für Zufuhr von Lösungen und O_2, sowie zum Entleeren des Gefäßes. El_1 Elektrode in Form eines Platinhäkchens mit feiner Drahtspirale, Gf Glasfaden, Ra Plexiglasrahmen mit Stahlkugel über der Düse der pneumatischen Registrieranordnung bestehend aus der Düse Dü, Druckluftzufuhr durch Widerstand W und Registrierkapsel RK. Ro Rolle, Gw Gegengewicht.

c) In calciumarmer Ringerlösung nahm die Kontraktionsamplitude sehr viel langsamer ab, sank aber viel tiefer als beim Ventrikelpräparat. Während calciumfreie Lösungen an diesem niemals zu einem völligen Verschwinden der Kontraktion führte, sank beim Streifenpräparat schon bei einer Calciumkonzentration von 15 % die Kontraktionsgröße allmählich auf null (Abb. 12).

Die Wirkung calciumarmer Lösungen verstärkte sich wie beim Ventrikel mit der Zahl aufeinanderfolgender Tests. Die für die Erholung in NRL benötigte Zeit war gegenüber dem Ventrikelpräparat ebenfalls verlängert. Ein „Wiedererholungseffekt" stellte sich auch bei höheren Konzentrationen (50 % Ca) erst nach 1—2stündigem Verweilen der calciumarmen Lösung und dann nur in geringem Ausmaß ein.

4. Der Test. Sein Verhalten gegenüber der Strophantosidwirkung. Quantitative Auswertung

a) Prinzipiell konnte das Vorgehen wie bei den Versuchen am isotonischen Ventrikelpräparat beibehalten werden. Auch das Streifenpräparat schlug abwechselnd in NRL und TL je während einer bestimmten Zeitdauer. Wie früher wurden die Bedingungen beim Lösungswechsel konstant gehalten. Die Lösungen mußten wegen der sich langsam einstellenden Wirkung und der langsamen Erholung in NRL länger im Herzen belassen werden. Die an einem Präparat ausführbare Anzahl von Tests war daher beschränkt. Zur Prüfung der Glykosidwirkung auf die in der calciumarmen Testlösung erreichte Kontraktionsgröße wurde während einer NRL-Periode für bestimmte Zeit die NRL durch strophantosidhaltige Lösung ersetzt.

b) Als Wirkung W des Glykosids wurde wie beim Ventrikelpräparat die prozentuale Änderung der relativen Kontraktionsgrößen bezeichnet (Relative Amplitude, RA). Zur Bestimmung von RA wurde aber beim Streifenpräparat das Mittel aus fünf Amplitudenwerten, nämlich der letzten Kontraktion je der 4.—8. Minute seit Zufuhr der Testlösung, verwendet, wobei deren Amplituden zu der in NRL vorher bestimmten ins Verhältnis gesetzt wurde. Bei diesem Vorgehen kam die Glykosidwirkung deutlicher zum Ausdruck, da die Streuung niedriger gehalten werden konnte.

c) Um das Verhalten des Tests bei mehrfacher Wiederholung zu prüfen (Versuch 32), wurden dem Präparat abwechselnd 8 Minuten NRL und während 20 Minuten eine calciumarme Testlösung mit einem Calciumgehalt von 15 % der NRL („Ca 15 %") zugeführt (Abb. 12). Die Kontraktionsamplituden in der Testlösung wurden in Abständen von 1 Minute gemessen, ihr Verhältnis zu der in NRL bestehenden Amplitude bestimmt und die Abnahme die-

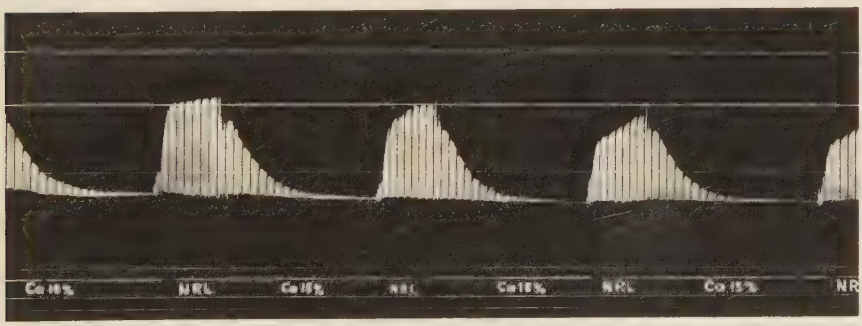

Abb. 12. Ventrikelstreifenpräparat. Verhalten gegenüber aufeinanderfolgenden Applikationen calciumarmer Testlösung („Ca 15 %"). Reizintervall 6 sec. bei Weglassen jedes 10. Reizes.

ser relativen Kontraktionsgrößen mit der Verweildauer bei den sich folgenden Tests verglichen.

Der Versuch (Tab. III) zeigt, daß mit der Folge der Applikationen calciumarmer Testlösung die Empfindlichkeit des Präparates gegen die Herabsetzung des Calciumgehaltes zunimmt, wie dies auch beim Ventrikelpräparat festzustellen war.

d) Zur Prüfung ob, wie beim Ventrikelpräparat, eine vorausgegangene Strophantosidgabe die Empfindlichkeit des Streifenpräparates gegen eine folgende herabsetzt, erhielt dieses in Versuch 34 abwechselnd während 24 Minuten NRL und während 10 Minuten eine calciumarme Lösung mit 10 % des Ca-Gehaltes der NRL. Nach sechs solchen Tests wurde in der 11. Minute der NRL-Periode für 8 Minuten die NRL gegen strophantosidhaltige Ringerlösung (0,3 γ/ml) ausgetauscht, anschließend wieder während 6 Minuten NRL gegeben und danach erneut die calciumarme Testlösung wie vorher zugeführt. Nach zwei weiteren Tests erhielt das Präparat bei gleichem Vorgehen nochmals Strophantosidlösung derselben Konzentration, deren Wirkung auf die Amplitude in Testlösung ebenfalls untersucht wurde.

Verweildauer der Testlösung	Relative Kontraktionsgrößen				
	1. Test	2. Test	3. Test	4. Test	5. Test
1 Min.	0,81	0,618	0,765	0,755	0,777
2 Min.	1,31	0,66	0,532	0,654	0,742
3 Min.	1,0	0,542	0,504	0,502	0,546
4 Min.	0,985	0,391	0,380	0,367	0,409
5 Min.	0,86	0,298	0,314	0,251	0,388
6 Min.	0,81	0,203	0,207	0,182	0,203
7 Min.	0,685	0,144	0,135	0,104	0,152
8 Min.	0,64	0,113	0,109	0,078	0,117
9 Min.	0,625	0,075	0,078	0,076	0,086
10 Min.	0,565	0,058	0,071	0,051	0,050
11 Min.	0,44	0,05	0,053	0,033	0,036
12 Min.	0,375	0,044	0,045	0,033	0,033
13 Min.	0,375	0,049	0,037	0,039	0,022
14 Min.	0,375	0,034	0,037	0,039	0,022
15 Min.	0,25	0,045	0,033	0,031	0,014
16 Min.	0,19	0,025	0,033	0,026	0,005
17 Min.	0,19	0,025	0,017	0,008	0
18 Min.	0,19	0,025	0,020	0	0
19 Min.	0,19	0,015	0,013	0	0
20 Min.		0,015	0,013	0	0

Tabelle III

Die Kontraktionsamplituden in der Testlösung wurden wie bei Versuch 32 in Abständen von 1 Minute gemessen und ihr Verhältnis zu der in NRL bestimmt. Das Mittel der relativen Kontraktionsgrößen nach 4, 5, 6, 7 und 8 Minuten für jede Applikation der Testlösung wurde als relative Amplitude RA des Tests bezeichnet. Als Wirkung (W) des Strophantosids wurde wieder die Differenz der RA der Teste vor und nach Glykosidgabe, ausgedrückt in Prozent der RA des Tests vor Strophantosid, angegeben. In Abb. 13 sind die relativen Amplituden der Tests 4—11 aufgezeichnet. Die relativen Kontraktionsgrößen aller ausgemessenen Kontraktionen in Abständen von 1 Minute sind in Tabelle IV zu finden.

Verweildauer der Testlösung	Relative Kontraktionsgrößen					
	1. Test	2. Test	3. Test	4. Test	5. Test	6. Test
1 Min.	0,720	0,700	1,010	0,71	0,798	0,805
2 Min.	0,760	0,730	0,970	0,82	0,71	0,71
3 Min.	0,606	0,570	0,760	0,622	0,552	0,547
4 Min.	0,700	0,428	0,558	0,499	0,453	0,461
5 Min.	0,440	0,363	0,452	0,406	0,389	0,394
6 Min.	0,358	0,303	0,413	0,325	0,331	0,346
7 Min.	0,312	0,262	0,313	0,287	0,28	0,302
8 Min.	0,258	0,226	0,268	0,244	0,238	0,272
9 Min.	0,241	0,196	0,235	0,222	0,215	0,244
10 Min.	0,200	0,167	0,201	0,195	0,178	0,205
	7. Test	8. Test	9. Test	10. Test	11. Test	
1 Min.	0,85	0,854	0,74	0,722	0,82	
2 Min.	0,875	1,005	0,765	0,858	0,85	
3 Min.	0,65	0,775	0,55	0,565	0,575	
4 Min.	0,546	0,52	0,53	0,473	0,486	
5 Min.	0,49	0,475	0,425	0,441	0,425	
6 Min.	0,433	0,422	0,393	0,401	0,378	
7 Min.	0,387	0,387	0,346	0,364	0,324	
8 Min.	0,364	0,346	0,302	0,325	0,284	
9 Min.	0,326	0,301	0,276	0,292	0,264	
10 Min.	0,291	0,275	0,247	0,273	0,223	

	1. Appl.	2. Appl.
Relative Amplitude (RA) der Teste nach Stroph.	0,444	0,401
Relative Amplitude (RA) der Teste vor Stroph.:	0,355	0,399
Differenz:	0,089	0,002
W =	25,1 %	0,5 %

Tabelle IV

Wie beim Ventrikelpräparat ist nach diesem Versuch auch beim Ventrikelstreifen eine Wirkungsabschwächung aufeinanderfolgender Glykosidgaben nachzuweisen. Abb. 12 zeigt, daß die Strophantosidwirkung innerhalb des beobachteten Abstandes von $1^1/_2$ Stunden mit sechsmaligem Lösungswechsel nicht vollständig reversibel ist.

Eine möglichst große Anzahl Tests vor der Glykosidgabe und möglichst großer Abstand zwischen den Applikationen waren daher auch beim Streifenpräparat einzuhalten. Bei der Auswertung der Versuche wurde wieder je ein Versuch in normaler und einer in umgekehrter Reihenfolge der Glykosidapplikationen berücksichtigt.

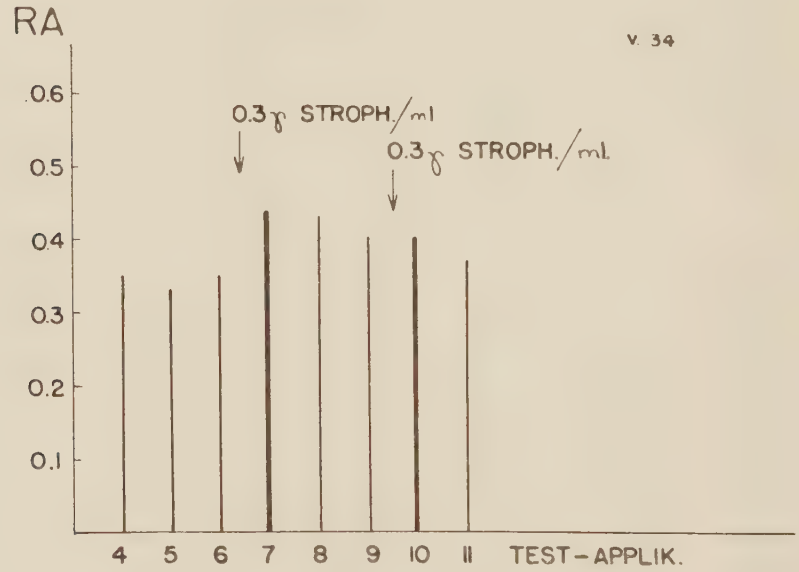

Abb. 13. Abnahme der Empfindlichkeit des Tests gegenüber Strophantosid nach vorausgegangener Glykosidwirkung. Deutliche Zunahme der Relativen Amplitude in calciumarmer Lösung nach der ersten Strophantosidgabe, keine Zunahme mehr nach der zweiten Verabreichung. Ventrikelstreifenpräparat.

Das Präparat bot an Vorteilen gegenüber dem Ventrikelpräparat die einfache Präparation und das bei der Versuchsanordnung größere Außenvolumen. Es war aber wegen der langsamen Einstellung nur eine geringe Zahl Tests am selben Präparat möglich. Aus diesem Grunde beschränkten wir schließlich die eigentlichen Versuche auf die Bestimmung der Abhängigkeit der Glykosidwirkung von der Kontraktionszahl.

Das Treppenphänomen ließ sich wie beim Ventrikelpräparat auch am Ventrikelstreifen des Froschherzens nachweisen. Der Einwirkung des Phänomens als

Folge der reizarmen Periode suchten wir wieder zu begegnen durch Einschalten einer langen Periode von NRL zwischen Zufuhr von Glykosidlösung und Testlösung.

C. Vorhofpräparat vom Meerschweinchen

1. Präparation

Verwendet wurden Meerschweinchen von 300—400 g Gewicht. Nach Tötung des Tieres durch Nackenschlag wurde das unter strengster Schonung des Sinus venosus herauspräparierte Herz in Tyrode-Lösung von 5—10° C verbracht und die Ventrikelmuskulatur bis an die AV-Grenze entfernt. Die Spitze des einen Herzohrs wurde mit einer Fadenschlinge am Halter der Registrieranordnung befestigt, die des anderen über ein Metallhäkchen und Glasfaden mit der Stahlfeder derselben verbunden. Das Präparat begann sofort zu schlagen, wenn es sich in warmer Tyrodelösung befand. Die Temperatur wurde mittels thermoreguliertem Wasserbad auf 28° C gehalten, wobei sich eine günstige, nicht zu rasche Frequenz einstellte. Die diastolische Belastung des Präparates wurde zu Beginn der Versuche auf 1 g eingestellt.

2. Registrieranordnung

Für die Registrierung der Kontraktionsgröße wurde eine zweistufige pneumatische Übertragungsanordnung verwendet (Abb. 14). Das Präparat wurde mit beiden Herzrohrspitzen zwischen Halter (Ha) und Glasfaden (Gf) senkrecht ausgespannt. Es zog bei der Kontraktion an der Stahlfeder (Sf), die in der Fixationsplatte (Fp) eingesetzt und mit einer über einen Ring gespannten Gummimembran (Gm) versehen war. Das Anpressen von Gm an die Düse ($Dü_1$) führte zu einem Staudruck, der auf die Druckkapsel (Dk_1) geführt wurde. Von dort wirkte er mit einer zweiten Übertragungsanordnung ($Dü_2$) = Düse, (W) = Widerstand auf die Registrierkapsel (Rk) ein und wurde mit dem Schreibhebel (Sch) geschrieben. Die Druckluftzufuhr erfolgte an den mit Pfeilen angegebenen Stellen. Mit W sind an beiden Übertragungsstufen die Widerstände bezeichnet. Die Zufuhrrohre z_1, z_2 und z_3 dienten zur Einführung und Entleerung von Lösungen, sowie zur Sauerstoffzufuhr, letzteres durch ein Stauerstoffrohr (Sr), um Erschütterungen des Präparates zu vermeiden. Dieses befand sich in dem Glasgefäß (Sg), das in ein nicht gezeichnetes, thermoreguliertes Wasserbad eingesenkt war.

Eine Eichung der Kurven war möglich durch entsprechende Belastung des Glasfadens (Gf).

3. Lösungen

Als Nährlösung wurde die von v. Muralt (22) angegebene gepufferte Tyrodelösung für Säuger-Versuche verwendet. Wie bisher erfuhren ionengeänderte Lösungen keinen Ausgleich ihrer Gesamtkonzentration. Die geänderten Ionenkon-

zentrationen wurden wieder in Prozent ihrer Konzentration in der normalen Tryodelösung (NTL) ausgedrückt.

4. Besonderheiten des Präparates

Die Spontanaktion bedingte eine gewisse Abhängigkeit der Frequenz vom Milieu. Sie wirkte sich allerdings bei der niedrigen Temperatur von 28° C nicht störend auf die Amplitude aus und wurde deshalb nicht berücksichtigt. Während der Versuche wurde sie vor und nach jedem Lösungswechsel bei rascherer Kymogeschwindigkeit (Abb. 15) kontrolliert.

Das Präparat erwies sich in noch stärkerem Maß von der Sauerstoffsättigung der Nährlösung abhängig als das Streifenpräparat vom Esculentenventrikel. Es war notwendig, Lösungen möglichst gleicher Sauerstoffsättigung zu verwenden. Auf Milieuänderungen sprach das Präparat in ähnlicher Weise langsam an, wie das

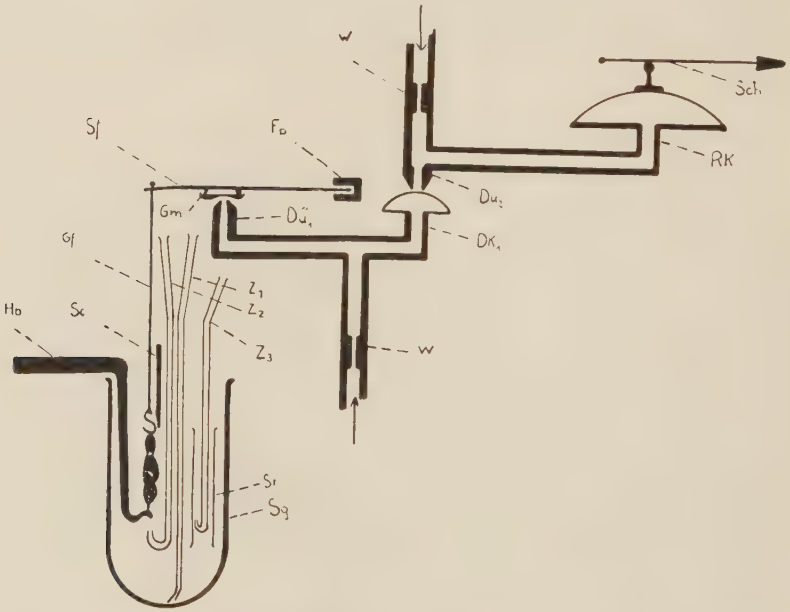

Abb. 14. Registrieranordnung für das Meerschweinchenvorhofpräparat: Sg Gefäß für Tyrodelösung mit dem zwischen Halter Ha und Glasfaden Gf eingespannten Präparat. Z_1, Z_2 Röhrchen für Zufuhr und Absaugen der Lösungen. Z_3 Zufuhr von O_2 in das wenig unter den Flüssigkeitsspiegel reichende Röhrchen Sr. Sc Querwand, gerade in die Lösung tauchend zum Schutz des Glasfadens vor Luftblasen. Sf Blattfeder mit Membranteller Gm im Halter Fp. $Dü_1$ Düse, Dk Druckkapsel der ersten, $Dü_2$ Düse, Rk Registrierkapsel mit Schreiber Sch der zweiten Verstärkungsstufe dienen der pneumatischen Registrierung. Die Druckluftzufuhr erfolgt über die Widerstände W. Das Gefäß Sg ist in ein nicht gezeichnetes thermoreguliertes Wasserbad eingehängt.

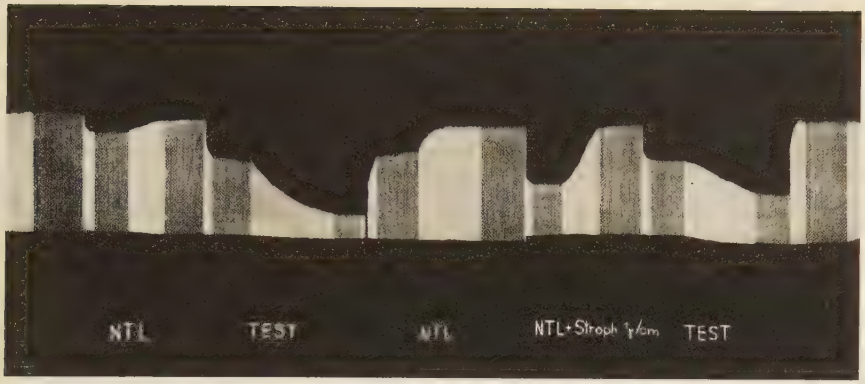

Abb. 15. Versuchsbeispiel vom Meerschweinchenvorhofpräparat. Anfänglich arbeitete das Präparat zuerst 10 Minuten, nach Erneuern der Lösung weitere 5 Minuten in normaler Tyrodelösung (NTL). Danach wurde calciumarme Testlösung mit 10 % Calcium der NTL während 10 Minuten verabreicht (Test). Nach weiteren 10 Minuten Arbeit in NTL erhielt das Präparat während 5 Minuten Tyrodelösung mit 1 γ Strophantosid/ml. Die Wirkung des Glycosids äußert sich in der folgenden Testperiode in geringerem Abfall der Kontraktionsamplitude. Während des Lösungswechsels wurde jeweilen nicht registriert. Vor und nach dem Lösungswechsel wurde die Schlagfrequenz bei größerer Kymogeschwindigkeit kontrolliert.

Streifenpräparat. Beim Lösungswechsel, auch beim Erneuern der Tyrodelösung, reagierte das Präparat meist mit einer deutlichen Abnahme der Amplitude (Abb. 15) und erholte sich erst im Lauf mehrerer Minuten. Zu einer Wiederholung der Kontraktionsamplitude in calciumarmer Tyrodelösung kam es innerhalb der Beobachtungsdauer von über 30 Minuten nicht.

5. Der Test. Verhalten gegen Strophantosid. Wirkungsmaß

Wie bei den früheren Präparaten wurde abwechselnd normale Tyrodelösung (NTL) und calciumarme Testlösung (Test) zugeführt (Abb. 15). Die Empfindlichkeit des Präparates gegen Calciummangel nahm in ähnlicher Weise wie bei den bisher benützten mit der Anzahl der Teste zu.

Wegen der beschränkten Arbeitsdauer und der langsamen Reaktion auf Milieuänderungen war die mögliche Gesamtzahl der Teste an einem Präparat sehr gering. Am einzelnen Objekt konnte nur ein Versuch durchgeführt werden, in dessen Verlauf nach einigen vorausgehenden Tests die Änderung der relativen Kontraktionsamplitude erstens nach einer Strophantosidgabe, zweitens nach einer Applikation ionengeänderter Lösung und drittens nach einer ionengeänderten Strophantosidlösung geprüft wurde. So wurde an je einem Präparat kaliumfreie Tyrodelösung, calciumfreie Tyrodelösung, kaliumreiche und calciumreiche Tyrodelösung untersucht.

Bei diesen Präparaten zeigten sich beträchtliche Unterschiede in der Beeinflussung der Kontraktionsamplitude durch die benützte calciumarme Testlösung mit 10 % Calcium. Ebenso stark schwankte die Wirkung gleicher Applikationen der Strophantosidlösung. Dies könnte auf Unterschiede in der Zugänglichkeit des Vorhofinnern für die Nährlösung zurückzuführen sein, vielleicht auch auf Unterschiede der Wanddicke mit differentem Penetrationsweg. Auf eine solche Ursache würde die deutlich verschiedene Reaktionsgeschwindigkeit auf Milieuänderungen hinweisen.

Die Eigenschaften des Präparates bedingten einige Änderungen im Versuchsvorgehen gegenüber den vorher benützten Objekten. Da bereits nach Erneuern der Tyrode die Kontraktionsgröße regelmäßig absank und sich erst im Lauf einiger Minuten erholte, war es nicht mehr möglich, zwischen Glykosidgabe und Test eine Periode von NTL einzuschalten. Die Konzentration der Glykosidlösung wurde auf 1 γ/ml festgesetzt, um einen sicheren Effekt auch bei geringerer Verweildauer zu erhalten. Der Glykosideinfluß auf den Test war grundsätzlich derselbe wie bei den übrigen Präparaten.

Als Maß für die Abhängigkeit der Glykosidwirkung von der Ionenkonzentration diente wie bei den Versuchen am Ventrikelpräparat vom Frosch der Quotient R, der bei diesen Versuchen aus der prozentualen Wirkung der ionengeänderten Strophantosidlösung (W_{is}) und der Summe der prozentualen Wirkungen ionengeänderter (W_i) und strophantosidhaltiger Tyrodelösungen (W_s) berechnet wurde. Als Maß für die Kontraktionsgröße in der Testlösung wurde die am Ende der fünften Minute nach Zufuhr der Lösung (insgesamt wurde sie 10 Minuten belassen) gemessene Kontraktionsamplitude verwendet.

Im Ionengehalt gegenüber normaler Tyrodelösung abgeänderte Versuchslösungen wurden im Folgenden mit I bezeichnet, ebensolche glykosidhaltige mit IS, und glykosidhaltige Tyrodelösung normaler Ionenkonzentration mit S.

III. Resultate

A. Abhängigkeit der Strophantosidwirkung von der Kontraktionszahl während der Einwirkungszeit des Glykosids

1. Versuche am isotonisch arbeitenden Froschventrikelpräparat

Untersucht wurde die Wirkung einer strophantosidhaltigen Ringerlösung (0,3 γ/ml) im Verlauf einer Einwirkungszeit von 8 Minuten, während der das Präparat 4 oder 16 oder 64 Kontraktionen ausführte.

Bei den Versuchen 24—27 (s. Tab. V) wurde wie folgt vorgegangen: Die Präparate arbeiteten abwechselnd während 3 Minuten in NRL und während 2 Minuten in calciumarmer Testlösung (10 % Ca der NRL). Davon diente die erste Minute jeweilen dem Lösungswechsel, während dessen von NRL 5,4 ml, von Testlösung 7,2 ml zur Spülung verbraucht wurden. Nach mehreren Tests wurde im Anschluß an eine NRL-Periode bei unterbrochener Reizung die NRL gegen Glykosidlösung ausgetauscht. Diese verblieb während 8 Minuten und wurde danach wieder durch NRL ersetzt. Nach 2 Minuten folgte wieder Testlösung während 2 Minuten abwechselnd mit NRL während 3 Minuten. Glykosidgaben folgten einander im Abstand von ca. 90 Minuten mit 10—11 eingeschalteten Tests.

Während der Einwirkungszeit von Glykosid wurden die Präparate entweder 4 oder 16 oder 64mal gereizt. In den Versuchen 10, 12, 24 folgten die Glykosidapplikationen in der Reihenfolge 4, 16, 64 Kontraktionen aufeinander, bei den Versuchen 25, 26, 27 in umgekehrter Reihenfolge.

Das Vorgehen war bei den in die Bewertung einbezogenen Versuchen 10 und 12 in bezug auf die bei der Einspülung verbrauchte Menge an Testlösung (5,4 ml) und die zwischen den Glykosidapplikationen liegenden Intervalle (74 Minuten zwischen 4 und 16 Kontraktionen, 41 Minuten zwischen 16 und 64 Kontraktionen) etwas verschieden. Außerdem ging der Glykosidperiode mit 4 Kontraktionen eine solche ohne Kontraktionen voraus, und bei Versuch 10 betrug die Glykosidkonzentration 0,225 γ/ml. Die sich aus den Unterschieden ergebenden Wirkungsdifferenzen lagen innerhalb der Streuung der Versuchsanordnung.

Die Kontrollversuche (Versuche 1, 2, 23, Tab. V) wurden mit gleicher Versuchsanordnung wie Versuche 24—27 durchgeführt, doch wurde anstelle der Glykosidlösung normale Ringerlösung gegeben. Da hier keine zeitliche Empfindlichkeitsabnahme gegen Glykosid zu berücksichtigen war, wurden nur Versuche durchgeführt in der Reihenfolge 4, 16, 64 Kontraktionen. Die Intervalle zwischen den anstelle der Glykosidperioden getretenen NRL-Perioden wurden außerdem kürzer gewählt. Sie dauerten ca. 30 Minuten mit 5 eingeschalteten Testen.

In Abb. 16 sind die prozentualen Wirkungen, wie sie sich bei den verschiedenen Kontraktionszahlen ergaben, dargestellt. Die Mittel aus allen Versuchen (Tab. VI) werden durch die ausgezogene Kurve, die der Versuche mit gleicher Reihenfolge der Kontraktionszahl durch unterbrochene Linien bezeichnet.

Versuch Nr.	Kontrakt.-zahl	RV vor Stroph.	RV nach Stroph.	Differenz	W (%)
10	4	0,358	0,434	0,076	21,2
	16	0,404	0,511	0,107	26,4
	64	0,455	0,455	0	0
12	4	0,384	0,449	0,065	16,8
	16	0,415	0,47	0,055	11,7
	64	0,429	0,491	0,062	12,6
24	4	0,386	0,455	0,069	17,9
	16	0,467	0,578	0,111	23,8
	64	0,512	0,614	0,102	19,9
25	64	0,618	0,839	0,221	35,8
	16	0,627	0,648	0,021	3,4
	4	0,787	0,607	—0,180	—22,8
26	64	0,141	0,23	0,089	63
	16	0,215	0,296	0,081	37,7
	4	0,303	0,370	0,067	22,1
27	64	0,389	0,556	0,167	43
	16	0,368	0,457	0,089	24,2
	4	0,453	0,515	0,062	13,7
Kontrollversuche					
1	4	0,500	0,458	—0,042	— 8,4
	16	0,522	0,460	—0,062	—11,8
	64	0,53	0,531	+0,001	+ 0,2
2	4	0,461	0,431	—0,030	— 6,5
	16	0,435	0,460	+0,025	+ 5,8
	64	0,445	0,531	+0,022	+ 4,9
23	4	0,419	0,32	—0,099	—23,6
	16	0,426	0,378	—0,048	—11,3
	64	0,472	0,550	+0,078	+16,5

Tabelle V

	Kontraktionszahl		
	4	16	64
Mittel aus den Versuchen 10, 12 24	18,6 %	19,8 %	10,8 %
Mittel aus den Versuchen 25, 26, 27	4,3 %	21,8 %	47,3 %
Mittel aus den Versuchen 10, 12, 24, 25, 26, 27	11,5 %	20,8 %	29,0 %
Mittel aus den Kontrollversuchen 1, 2, 23	—18,2 %	— 5,8 %	+ 7,2 %

Tabelle VI

Für die Bewertung der Resultate ist zu beachten, daß von der Empfindlichkeitsabnahme des Tests im Verlauf mehrerer Glykosidgaben in der Versuchsreihe 10, 12, 24 nur die Werte für 4 Kontraktionen unbeeinflußt blieben, in der Versuchsreihe 25, 26, 27 nur die Werte für 64 Kontraktionen. Die Mittel dieser Werte ergaben eine Wirkungsdifferenz von 28,7 % zwischen 4 und 64 Kontraktionen. Dieser Wirkungsunterschied liegt sehr nahe an dem für die Kontrollversuche ermittelten Wert von 25,4 % zwischen 4 und 64 Kontraktionen. Abb. 17 zeigt die Kurven aus den Mittelwerten der Kontrollen und die aus allen Glykosidversuchen.

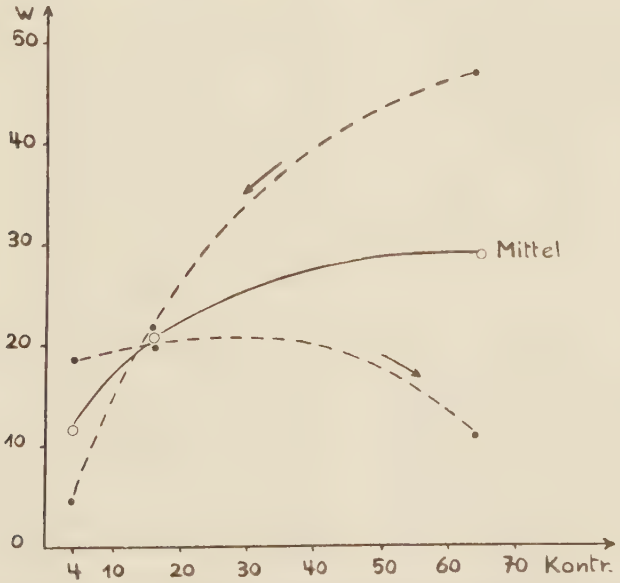

Abb. 16. Abhängigkeit der Strophantosidwirkung bei konstanter Konzentration (0,3 γ/ml) und Einwirkungszeit (8 Minuten) von der während der Einwirkung vom Herzen ausgeführten Anzahl von Kontraktionen. Froschventrikelpräparat. Unterbrochene Kurven: Mittel aus den in gleicher Richtung durchgeführten Versuchen. Ausgezogene Kurve: Mittel aus allen Versuchen (Tab. V, VI).

Ein Unterschied im Verlauf der Kontraktionszahlwirkungskurve zwischen den Strophantosidversuchen und den Kontrollen ließ sich also nicht feststellen. Auf die Interpretation dieses Befunds wird jedoch erst in der Diskussion ausführlich eingegangen werden.

Der Verlauf der Kurve bei den Kontrollversuchen (Abb. 17) bedarf einer Erläuterung: Es ergibt sich aus diesen Versuchen eine Abhängigkeit des Tests von der Anzahl der in der 8-Minuten-Periode in NRL ausgeführten Kontraktionen. Die negativen Wirkungen bei 4 und 16 Kontraktionen sind offenbar als Bowditch'sches Treppenphänomen zu deuten: Nach reizarmen Perioden sinkt die Kontraktionsamplitude ab. Für die positive Wirkung bei 64 Kontraktionen läßt sich möglicherweise folgende Erklärung geben: Bei periodischer Durchführung des Tests ist die in der calciumarmen Testlösung erreichte Kontraktionsgröße abhängig von der dem Präparat zur Erholung in NRL zur Verfügung stehenden Zeit.

Bei 64 Kontraktionen innerhalb der 8-Minuten-Periode konnte sich ein dem Treppenphänomen analoges Verhalten nicht mehr auswirken. Dagegen mußte, wegen der sehr langen Erholungsdauer in NRL seit dem vorausgegangenen Test, der nun folgende einen Anstieg der Kontraktionsgröße zeigen.

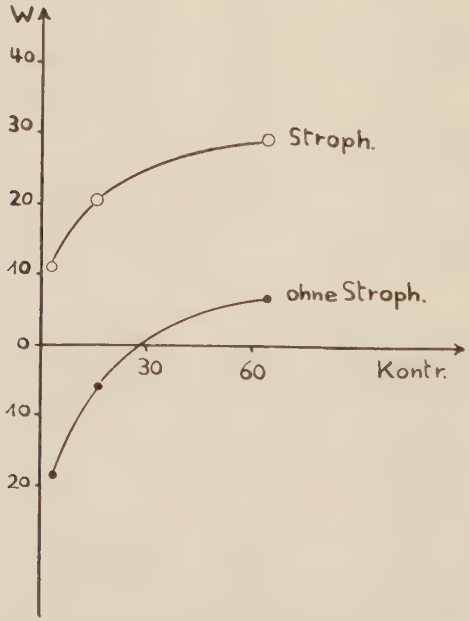

Abb. 17. Verlauf der Kontraktionszahl-Wirkungskurve bei Kontrollversuchen („ohne Stroph.") und Versuchen mit 0,3 γ Strophantosid/ml („Stroph."). Mittelwerte (Tab. V).

2. Versuche am Ventrikelstreifenpräparat

An zwei Präparaten wurde die Wirkung einer Ringerlösung mit 0,3 γ Strophantosid/ml im Verlauf einer Einwirkungszeit von 8 Minuten untersucht, während der die Präparate 4 oder 16 oder 64 Kontraktionen ausführten.

Das Versuchsvorgehen war folgendes: Die Präparate erhielten abwechselnd NRL während 20 Minuten (wobei in der 9. und in der 17. Minute die Lösung erneuert wurde), und die calciumarme Testlösung (10 % Ca der NRL) während 10 Minuten. Die Strophantosidapplikationen erfolgten bei anfangs ausgeschalteter Reizung während einer NRL-Periode. Die Glykosidlösung verblieb von der 9. bis zum Ende der 17. Minute. Während dieser Zeit führte das Präparat 4 oder 16 oder 64 Kontraktionen aus. Die Glykosidgaben folgten einander in Abständen von 3—5 Testen.

Verweildauer der Testlösung	Relative Kontraktionsgrößen					
	4 Kontraktionen		16 Kontraktionen		64 Kontraktionen	
	vor Glycosid	nach Glycosid	vor Glycosid	nach Glycosid	vor Glycosid	nach Glycosid
Versuch 36:						
1 Min.	0,705	0,496	0,572	0,795	0,531	0,483
2 Min.	0,602	0,436	0,45	0,845	0,492	0,510
3 Min.	0,428	0,370	0,38	0,615	0,371	0,420
4 Min.	0,348	0,344	0,314	0,441	0,290	0,353
5 Min.	0,265	0,324	0,282	0,416	0,234	0,313
6 Min.	0,235	0,298	0,242	0,365	0,210	0,278
7 Min.	0,265	0,271	0,218	0,314	0,170	0,256
8 Min.	0,236	0,252	0,193	0,250	0,145	0,239
9 Min.	0,224	0,219	0,161	0,211	0,129	0,221
10 Min.	0,20	0,212	0,145	0,198	0,113	0,205
Versuch 37:						
1 Min.	0,805	0,845	0,935	0,95	0,84	0,905
2 Min.	0,855	0,845	0,87	0,965	0,685	0,80
3 Min.	0,655	0,675	0,754	0,825	0,506	0,63
4 Min.	0,552	0,585	0,60	0,657	0,42	0,506
5 Min.	0,435	0,475	0,496	0,53	0,309	0,432
6 Min.	0,352	0,455	0,40	0,44	0,251	0,372
7 Min.	0,268	0,384	0,328	0,42	0,212	0,311
8 Min.	0,201	0,338	0,288	0,368	0,151	0,297
9 Min.	0,151	—	0,288	0,286	0,144	0,243
10 Min.	0,134	—	0,193	0,278	0,084	0,226

Tabelle VII

Folgende RA wurden, wie S. 27 angegeben, aus diesen Werten berechnet:

	4 Kontraktionen		16 Kontraktionen		64 Kontraktionen	
	vor Glycosid	nach Glycosid	vor Glycosid	nach Glycosid	vor Glycosid	nach Glycosid
Versuch 36	0,288	0,298	0,249	0,357	0,210	0,288
Versuch 37	0,362	0,445	0,442	0,483	0,268	0,384

Als prozentuale Wirkungen ergeben sich daraus:

	Kontraktionszahl		
	4	16	64
Versuch 36	3,5 %	43,9 %	37,0 %
Versuch 37	22,9 %	14,5 %	42,2 %
Mittelwerte	13,2 %	29,2 %	39,6 %

In Versuch 36 folgten einander Glykosidgaben in der Reihenfolge 4, 16, 64 Kontraktionen, in Versuch 37 mit der umgekehrten Reihenfolge.

Die Versuche wurden wie unter dem Abschnitt Methodik vermerkt ausgewertet. Das Mittel aus den relativen Kontraktionsgrößen der Kontraktionen je am Ende der 4.—8. Minute seit Zufuhr der TL wurde als relative Amplitude (RA) bezeichnet und die RA der Teste vor und nach der Glykosidgabe in der üblichen Weise verglichen. Die relativen Kontraktionsgrößen am Ende jeder Minute seit Zufuhr der Testlösung für die Teste vor und nach Glykosid finden sich in Tab. VII.

Die Ergebnisse aus den beiden einzigen Versuchen, die am Ventrikelstreifenpräparat vorgenommen wurden zeigt Abb. 18. Die Kurven geben den Verlauf der Kontraktionszahl-Wirkungskurve für die Mittelwerte (ausgezogene Kurve), sowie die Wirkungen der einzelnen Versuche.

Die aus den Mitteln gewonnene Kontraktionszahl-Wirkungskurve des Ventrikelstreifens hat in Anbetracht der großen Streuung der Werte vom Streifenpräparat an sich wenig Gewicht. Der übereinstimmende Kurvenverlauf in diesen Versuchen und in denen am Ventrikelpräparat spricht aber dafür, daß sie eine reale Beziehung darstellt.

Das Präparat wurde nicht weiter verwendet wegen der nur langsam sich einstellenden Reaktion auf die Testlösungen, wegen der meist zu wenig konstanten Kontraktionsgröße in NRL — deren Konstanz Bedingung der Verwendbarkeit des Wirkungsindex war — sowie wegen der komplizierten Auswertung der Versuche.

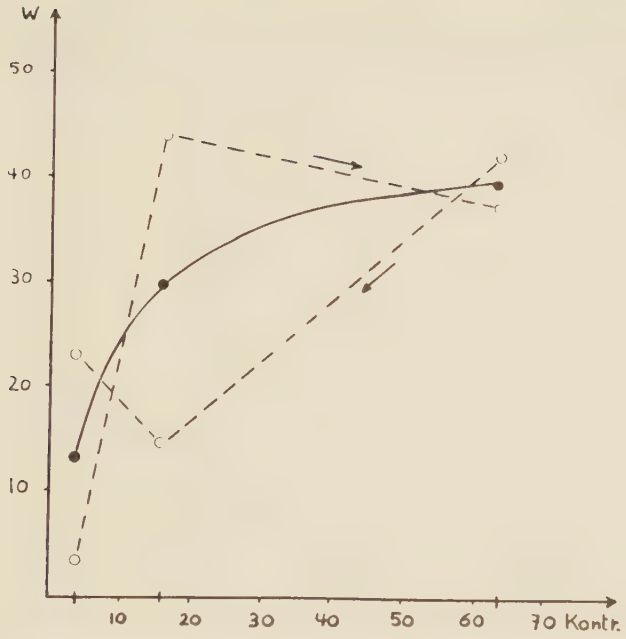

Abb. 18. Abhängigkeit der Strophantosidwirkung bei konstanter Einwirkungszeit (8 Minuten) und Konzentration (0,3 γ/ml) von der während der Einwirkung ausgeführten Anzahl von Kontraktionen. Froschventrikelstreifenpräparat. Unterbrochene Linien: Pfeil nach rechts Versuch 36, Pfeil nach links Versuch 37. Ausgezogene Kurve: Mittelwerte (Tab. VII).

B. Abhängigkeit der Strophantosidwirkung von der Konzentration

1. Versuche mit höheren Konzentrationen

Am Froschventrikelpräparat wurde die Wirkung verschiedener Konzentrationen von Strophantosid, nämlich 0,6—1,2—2,4 und 4,8 γ/ml untersucht. Während der konstanten Einwirkungszeit von 3 Minuten führten die Präparate 27 Kontraktionen aus.

Folgendes Versuchsvorgehen wurde gewählt: Die Präparate erhielten abwechselnd während 5 Minuten NRL und während 4 Minuten calciumarme Testlösung (10 % Ca der NRL). Beim Lösungswechsel wurden von der NRL 5,4 ml, von der TL 7,2 ml Lösung verbraucht. Die Glykosidlösungen wurden im Verlauf einer NRL-Periode, nach der zweiten Minute, unter Beibehalten der Reizung, im Austausch gegen NRL zugeführt.

Nach 3 Minuten Verweildauer folgte wieder TL. Zwischen den einzelnen Glykosidapplikationen am selben Präparat lagen Intervalle von 5—7 Testen. Während der Versuche 28 und 29 wurden den Präparaten die verschiedenen Konzentrationen in der Reihenfolge 0,6 — 1,2 — 2,4 — 4,8 γ/ml verabreicht, in den Versuchen 30 und 31 in der umgekehrten Reihenfolge.

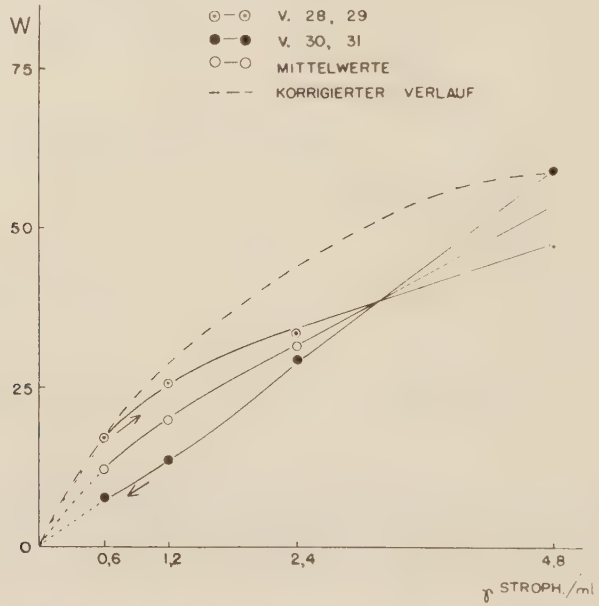

Abb. 19. Abhängigkeit der Strophantosidwirkung von der Konzentration. Froschventrikelpräparat. Glykosideinwirkungszeit 3 Minuten (mit 27 Kontraktionen). Mittelwerte. Die unterbrochen gezeichnete Kurve gibt den zu erwartenden Verlauf unter Berücksichtigung der Empfindlichkeitsabnahme des Tests gegen Glykosid.

Die relativen Volumina der Teste vor und nach Glykosid wurden ermittelt und daraus die Wirkung W der entsprechenden Konzentration bestimmt. Die Werte sowie die Mittel der W finden sich in Tab. VIII.

Aus dem unterschiedlichen Verlauf der Konzentrations-Wirkungskurve für die Versuche in ansteigender und in absteigender Konzentrationsreihe (Abb. 19) ist auf eine Empfindlichkeitsabnahme gegen das Glykosid zu schließen, wie sie sich auch bei den früheren Versuchen gezeigt hatte. Sie ist bei den hier angeführten jedoch deutlich geringer, trotz der sehr viel höheren Konzentrationen. Dies geht parallel mit der geringeren Verweildauer des Glykosids.

Die Kurve aus sämtlichen Mittelwerten ist annähernd eine Gerade, die aber nicht durch den Ursprung geht. Ähnlich wie bei den Versuchen über die Kontrak-

Versuch	Konzentration γ/ml	RV vor Stroph.	RV nach Stroph.	Differenz	W (%)
28	0,6	0,402	0,417	0,015	4,1
	1,2	0,319	0,442	0,123	30,9
	2,4	0,365	0,525	0,160	43,9
	4,8	0,448	0,66	0,212	47,4
29	0,6	0,208	0,27	0,062	29,8
	1,2	0,271	0,326	0,055	20,3
	2,4	0,285	0,350	0,065	22,8
	4,8	0,317	0,460	0,149	47
30	4,8	0,231	0,380	0,149	64,2
	2,4	0,303	0,367	0,064	21
	1,2	0,329	0,384	0,055	16,7
	0,6	0,365	0,397	0,032	8,8
31	4,8	0,382	0,595	0,213	55,7
	2,4	0,529	0,635	0,106	17,8
	1,2	0,570	0,630	0,060	10,5
	0,6	0,572	0,610	0,038	6,6

	0,6	1,2	2,4	4,8 γ/ml
Mittel aus den Versuchen 28, 29	16,9 %	25,6 %	33,3 %	47,2 %
Mittel aus den Versuchen 30, 31	7,7 %	13,6 %	29,4 %	59,9 %
Mittel aus den Versuchen 28—31	12,3 %	19,6 %	31,3 %	53,5 %

Tabelle VIII

tionszahlabhängigkeit sind auch hier ausschließlich die „äußeren" Werte (für 0,6 γ/ml in den Versuchen 28, 29; sowie für 4,8 γ/ml in den Versuchen 31, 30) unbeeinflußt von der Empfindlichkeitsabnahme gegen das Glykosid. Die Werte für 1,2 und 2,4 γ/ml in allen Versuchen, also auch die Mittelwerte, liegen daher vermutlich zu tief, so daß ein nicht linearer Verlauf, etwa wie der in Abb. 19 gestrichelt eingezeichnete, wahrscheinlicher sein dürfte. Beim Versuch halbquantitativer Auswertung unter Berücksichtigung der bei Applikation einer bestimmten Konzentration bereits vorausgegangenen Dosen erhält man eine ähnlich verlaufende, wenig tiefer liegende Kurve.

2. Schwelle der Strophantosidwirkung am Ventrikelpräparat

Anhaltspunkte über die Schwelle der Strophantosidwirkung für die gewählten Versuchsbedingungen konnten aus einer Reihe von Versuchen gewonnen werden, die durchgeführt wurden zur Bestimmung einer günstigen Glykosidkonzentration für die Versuche zur Kontraktionszahlabhängigkeit.

Das Versuchsvorgehen entsprach dem der Versuche 10 und 12 im Abschnitt III A (S. 33), doch dauerten die Intervalle zwischen den Glykosidapplikationen nur ca. 30 Minuten mit 5 eingeschalteten Testen.

Versuche wurden durchgeführt mit 0,08 — 0,1 — 0,125 — 0,175 — 0,225 und 0,3 γ Strophantosid/ml. Danach lagen für die verschiedenen Konzentrationen Wirkungen vor, die nach einer Einwirkungszeit von 8 Minuten gewonnen wurden, während der die Präparate keine oder 4 oder 16 oder 64 Kontraktionen ausgeführt hatten (für die Konzentration 0,08 γ/ml Werte bei 0, 12 oder 64 Kontraktionen).

Zur Berechnung der Regression der Strophantosidwirkung gegen die Konzentration wurden die bei gleicher Konzentration, aber verschiedener Kontraktionszahl

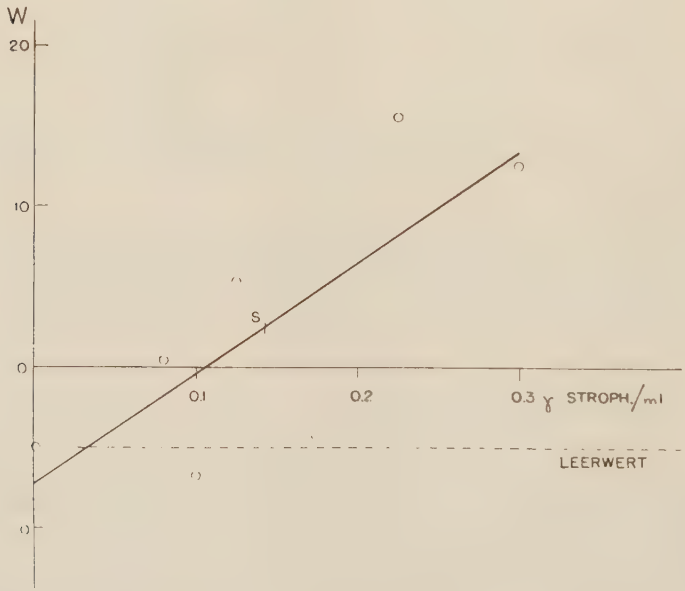

Abb. 20. Regression der Strophantosidwirkung gegen die Konzentration im Bereich niedriger Konzentrationen beim Froschventrikelpräparat. Mittel aus den bei gleicher Konzentration, aber verschiedener Kontraktionszahl beobachteten Wirkungen. Kontrollversuche (Konzentration 0) sind bei der Berechnung einbezogen, das Mittel der bei der Konzentration null beobachteten Effekte ist als Abszissenparallele eingezeichnet.

erhaltenen Wirkungen W gemittelt. Unter Einbezug der entsprechenden Werte aus den Kontrollversuchen ohne Glykosid (Tab. V) ergaben sich folgende Wirkungen:

Konzentration: (γ/ml)

0	0,08	0,1	0,125	0,175	0,225	0,3

Mittel der W:

—5,1 %	+0,2 %	—6,7 %	+5,3 %	—4,1 %	+15,5 %	+12,4 %

Aus diesen Mittelwerten ließ sich die Regressionsgerade bestimmen (Abb. 20). Der Regressionskoeffizient hat den Wert 67,54, der Schwerpunkt liegt bei W = —2,5 % und der Konzentration 0,144 γ/ml. Der Schnittpunkt der Geraden mit der Ordinate liegt bei W = —7,25 %.

Nach dem Verlauf der Regressionsgeraden liegt die Wirkungsschwelle in der Gegend von 0,1 γ/ml für die mittlere Kontraktionszahl von 21 innerhalb der Einwirkungsdauer von 8 Minuten.

C. Reversibilität der Strophantosidwirkung auf den Test

Aus den bisher angeführten Versuchen ließen sich Anhaltspunkte über die Reversibilität der Glykosidwirkung gewinnen. Verfolgt man in den Tabellen I, II, V und VIII und in den Abbildungen 10 und 13 innerhalb der einzelnen Versuche die Testamplituden vor der Strophantosidgabe, so wird ihre allmähliche Zunahme mit der Anzahl der Glykosidapplikationen deutlich. Daraus ist zu schließen, daß die Reversibilität der Glykosidwirkung bei der Versuchsanordnung nicht vollständig war. Bei den im Abschnitt III A angeführten Versuchen 10, 12 arbeiteten die Präparate zwischen den Glykosidgaben mit 4 und 16 Kontraktionen während 74 Minuten mit 31-maligem Lösungswechsel, zwischen den Glykosidgaben mit 16 und 64 Kontraktionen während 41 Minuten mit 17-maligem Lösungswechsel. Trotz dieser langen, für die Erholung zur Verfügung stehenden Zeiten und trotz der intensiven Ausspülung war nur eine teilweise, nie eine völlige Erholung zu erreichen. Auch die Versuche 24—27 mit noch ausgedehnteren Intervallen (90 Minuten) zeigen praktisch dasselbe. Im Vergleich dazu finden sich bei den Kontrollversuchen über die Kontraktionszahlabhängigkeit nur geringfügige Anstiege der Testamplituden.

Ein Zusammenhang zwischen ungenügender Reversibiliät der Glykosidwirkung und Empfindlichkeitsabnahme des Tests ist wahrscheinlich.

D. Abhängigkeit der Strophantosidwirkung von der Kalium- und Calciumkonzentration während der Glykosideinwirkung

1. Isotonisch arbeitendes Froschventrikelpräparat

Die Versuchsreihe sollte durchgeführt werden bei strikter Regularisierung des Versuchsvorgehens. Um beobachtete Wirkungen von einer verschiedenen Reihenfolge in der Applikation bestimmter Versuchslösungen möglichst unabhängig zu machen, wurde außerdem das Prinzip des Kreuzversuchs verwendet. Abb. 21 zeigt das Vorgehen für die am einzelnen Präparat durchgeführten Untersuchungen.

a) Am gleichen Präparat wurden insgesamt drei Versuchslösungen in ihrer Wirkung auf den Test untersucht, nämlich erstens eine ionengeänderte Lösung (I), zweitens dieselbe Lösung mit Glykosid (IS) und drittens normale Ringerlösung mit Glykosid (S).

b) Jede der weiter unten angeführten ionengeänderten Lösungen wurde an 4 verschiedenen Präparaten geprüft, wobei folgende Reihenfolge der drei an jedem Präparat angewandten Lösungen eingehalten wurde: als erste Versuchslösung wurde regelmäßig I geprüft. Bei der Hälfte der Präparate wurde als zweite Versuchslösung IS und als letzte S untersucht, bei der anderen Hälfte umgekehrt IS als letzte.

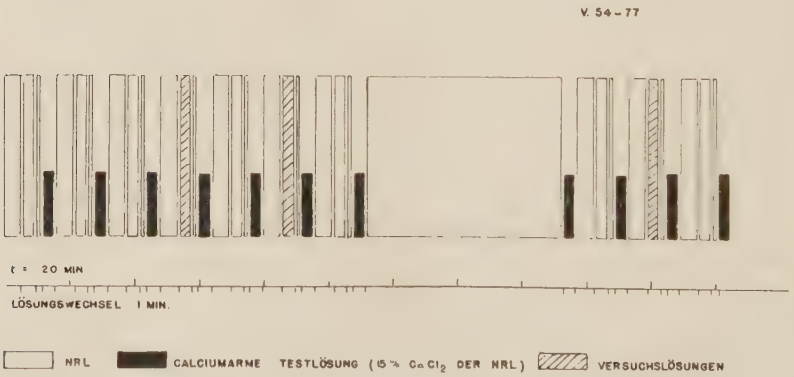

Abb. 21. Versuchsvorgehen zur Prüfung der Abhängigkeit der Strophantosidwirkung von der Ionenkonzentration während der Einwirkungszeit. Schematisches Volumamplitude-Zeit-Diagramm (Versuche Tab. IX).

c) Geprüft wurden folgende Versuchslösungen:

ohne bzw. mit Strophantosid 0,6 γ/ml

kaliumarme Ringerlösung 15 % K der NRL
calciumarme Ringerlösung 15 % Ca der NRL
kaliumreiche Ringerlösung 6,6 facher K-Gehalt der NRL
calciumreiche Ringerlösung 1,61 facher Ca-Gehalt der NRL
calciumreiche Ringerlösung 2,58 facher Ca-Gehalt der NRL
calciumreiche Ringerlösung 6,66 facher Ca-Gehalt der NRL

normale Ringerlösung mit Strophantosid 0,6 γ/ml.

d) Folgendes Vorgehen bei den Versuchen wurde eingehalten:

Die Präparate arbeiteten abwechselnd während 12 Minuten mit NRL und während 4 Minuten in calciumarmer Testlösung (15 % Ca der NRL). Während

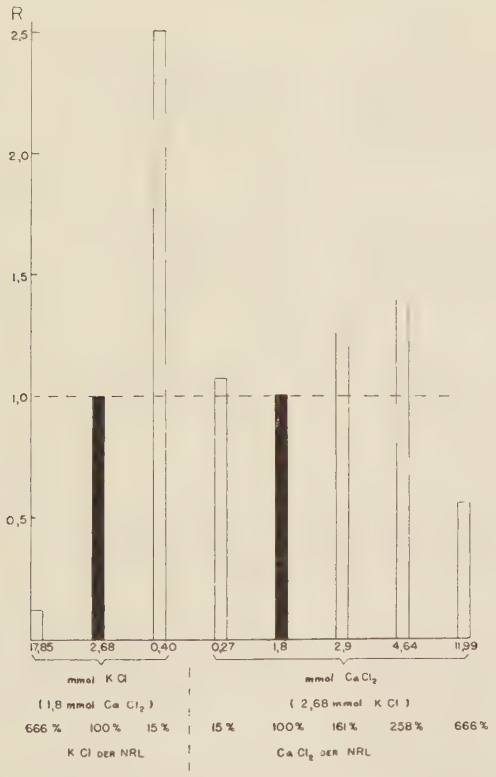

Abb. 22. Änderung der Strophantosidwirkung mit der K*- und Ca**-Konzentration während der Einwirkungszeit. R-Werte (s. Abschn. II, A, 4 f) über 1 bedeuten Verstärkung, solche unter 1 Abschwächung der Glykosidwirkung gegenüber der in normaler Ringerlösung (R = 1). Aus den Mittelwerten der Wirkungen D berechnet (Tab. IX).

Nr.	RV	D_{i_I}	$D_{i_{II}}$	RV	D_{is_I}	$D_{is_{II}}$	RV	D_{s_I}	$D_{s_{II}}$
	K 15 %			K 15 % + Stroph.			Ringer + Stroph.		
54	0,333	+0,003	+0,003	0,336	+ 0,337	+0,264	0,570	+0,230	+ 0,207
55	0,402	+0,011	+0,023	0,592	+0,458	+0,233	0,483	+0,158	+ 0,122
56	0,148	+0,009	+0,016	0,164	+0,371	+0,236	0,388	+0,147	+0,167
57	0,236	+0,007	+0,038	0,424	+ 0,504	+0,391	0,274	+0,100	+0,090
	0,279	+ 0,007	+0,020	0,379	+0,418	+ 0,281	0,429	+0,159	+0,147
	K 666 %			K 666 % + Stroph.			Ringer + Stroph.		
58	0,415	—0,092	— 0,139	0,276	+0,055	+ 0,144	0,393	+0,204	+0,147
59	0,220	—0,026	—0,016	0,304	—0,046	— 0,034	0,204	+0,071	+ 0,042
60	0,157	+ 0,008	+0,027	0,184	+ 0,054	+0,073	0,344	+0,088	+0,058
61	0,139	+ 0,046	+0,041	0,433	—0,019	+0,007	0,180	+0,058	+0,080
	0,233	—0,016	— 0,022	0,299	+0,011	+0,048	0,280	+ 0,105	+0,081
	Ca 15 %			Ca 15 % + Stroph.			Ringer + Stroph.		
62	0,546	+0,044	+0,026	0,572	+0,142	+ 0,093	0,675	+0,101	+ 0,084
63	0,260	+0,000	+0,000	0,575	+0,102	+0,091	0,260	+0,101	+0,132
64	0,442	+0,023	+ 0,043	0,485	+0,223	+0,205	0,740	+ 0,110	+0,090
65	0,303	+0,000	+0,006	0,56	+ 0,122	+ 0,110	0,309	+0,167	+0,149
	0,388	+ 0,017	+0,019	0,548	+0,147	+ 0,125	0,496	+0,120	+0,111

	Ca 161 %			Ca 161 % + Stroph.			Ringer + Stroph.		
66	0,256	+0,000	+0,016	0,440	+0,163	+0,141	0,284	+0,134	+0,138
67	0,117	+0,024	+0,058	0,175	+0,143	+0,148	0,329	+0,139	+0,145
68	0,496	—0,074	—0,074	0,422	+0,296	+0,049	0,486	+0,188	+0,200
69	0,146	+0,021	+0,082	0,525	+0,175	+0,162	0,228	+0,172	+0,167
	0,254	—0,007	+0,021	0,390	+0,194	+0,125	0,332	+0,158	+0,163
	Ca 258 %			Ca 258 % + Stroph.			Ringer + Stroph.		
70	0,399	+0,045	+0,005	0,404	+0,228	+0,178	0,634	+0,100	+0,140
71	0,217	+0,198	+0,088	0,404	+0,481	+0,289	0,305	+0,111	+0,116
72	0,200	+0,050	+0,025	0,538	+0,365	+0,295	0,225	+0,086	+0,136
73	0,097	+0,070	+0,053	0,150	+0,212	+0,200	0,582	+0,174	+0,185
	0,228	+0,098	+0,043	0,374	+0,321	+0,240	0,436	+0,118	+0,144
	Ca 666 %			Ca 666 % + Stroph.			Ringer + Stroph.		
74	0,217	+0,076	+0,019	0,236	+0,160	+0,081	0,426	+0,114	+0,077
75	0,286	+0,011	+0,010	0,467	+0,118	+0,040	0,296	+0,134	+0,109
76	0,474	+0,289	+0,129	0,603	+0,192	+0,139	0,843	+0,102	+0,087
77	0,344	+0,095	+0,068	0,683	+0,056	+0,062	0,412	+0,121	+0,106
	0,330	+0,117	+0,055	0,497	+0,132	+0,081	0,494	+0,117	+0,095

Tabelle IX

der NRL-Periode wurde regelmäßig nach der 6. und nach der 10. Minute die Ringerlösung erneuert. Für sämtliche Lösungswechsel wurden je 9 ml Lösung verbraucht. Gereizt wurden die Präparate alle 10 sec, jeder 10. Reiz wurde ausgelassen.

Die Versuchslösungen wurden während einer NRL-Periode anstelle neuer Ringerlösung, nach der 6. Minute, zugeführt, insgesamt 3 Minuten belassen und danach wieder durch NRL ersetzt.

e) Die relativen Volumina der Teste vor und nach diesem Vorgehen wurden ermittelt, ihre Differenz wurde als Wirkung D bezeichnet. Aus den Mitteln der zusammengehörenden Werte von D_i, D_s und D_{is} wurden, wie auf Seite 24 angeführt, die Werte R berechnet.

f) In die Tabelle IX wurden die relativen Volumina der Tests vor Verabreichen der Versuchslösungen aufgenommen, sowie deren Zu- oder Abnahme für die beiden folgenden Tests (D_I, D_{II}). Unter jeder Versuchsgruppe sind außerdem die Mittel der zusammengehörenden Werte angeführt.

Aus den Wirkungen D ergeben sich bei Verwendung der Werte D_I bzw. D_{II} nach Verabreichen der Versuchslösungen die Werte R_I (Abb. 22) resp. R_{II}.

	R_I	R_{II}
Ca 15 %	1,07	0,96
K 15 %	2,51	1,68
K 6,66-fach	0,12	0,54
Ca 1,61-fach	1,28	0,68
Ca 2,58-fach	1,42	1,23
Ca 6,66-fach	0,56	0,81

In Abb. 23 sind die relativen Volumina des Tests vor und der beiden Tests nach den einzelnen Versuchslösungen (Mittelwerte aus den Versuchsgruppen der Tab. X) graphisch dargestellt.

Aus den Resultaten ist hervorzuheben das Verhalten des Tests nach glykosidfreien ionengeänderten Lösungen: Im Mittel zeigten sich nur geringe Effekte dieser Versuchslösungen. Besonders sind Änderungen der K-Konzentration von geringer Wirkung. Die Wirkung calciumreicher Versuchslösungen scheint dagegen mit zunehmender Calciumkonzentration etwas deutlicher zu werden.

Eine Änderung der Glykosidwirkung durch Änderung der Ionenkonzentration während der Einwirkungszeit war besonders deutlich für die K-geänderten Lösungen nachzuweisen (Abb. 23). K-arme Lösung verstärkt die Glykosidwirkung auf den Test ganz erheblich, während K-Anreicherung sie beinahe verhindert. Herabsetzung der K-Konzentration läßt sie dagegen praktisch unbeeinflußt. Vermehrung der Ca-Konzentration äußert sich deutlich bei den Versuchen mit 2,58-facher Ca-Konzentration in einer Verstärkung der Glykosidwirkung. Trotzdem die glykosidfreie, ionengeänderte Versuchslösung mit 6,66-fachem Ca-Gehalt einen besonders deutlichen Effekt auf den Test gehabt hatte, ist eine gleiche Konzentrationsänderung während der Glykosidwirkung von nur geringem Einfluß auf deren Effekt am Test.

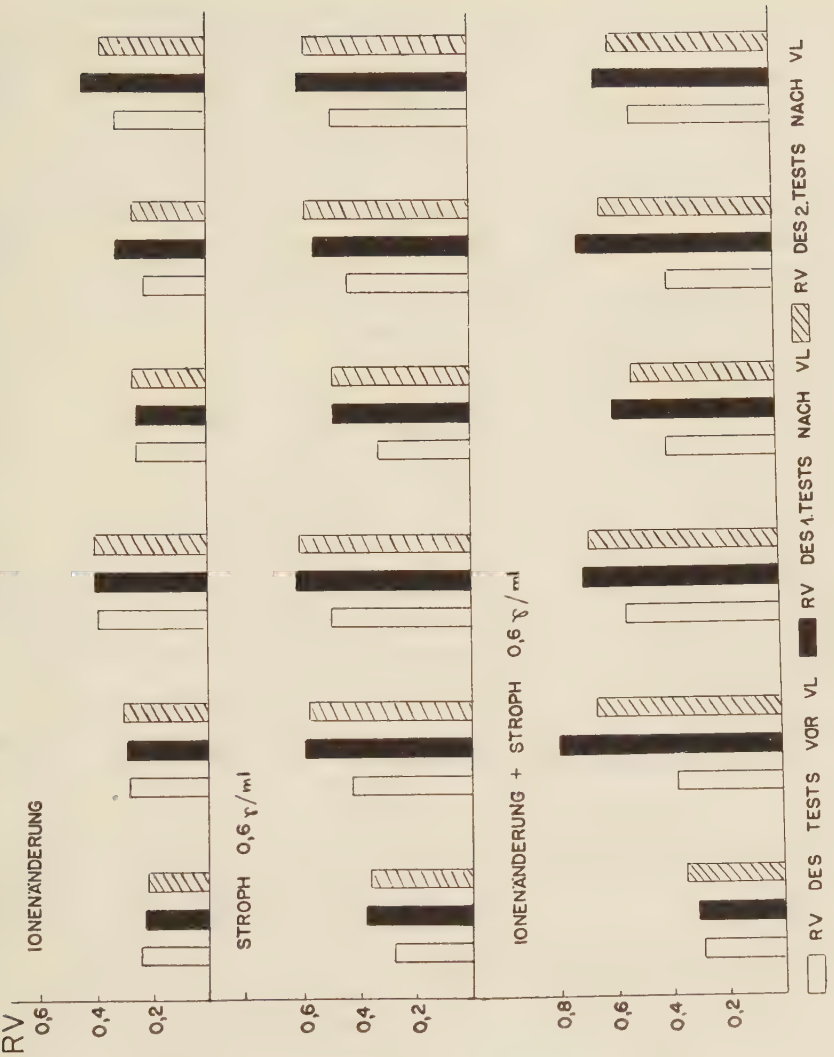

Abb. 23.

Abhängigkeit der Glykosidwirkung von der Kalium- und Calciumkonzentration während der Einwirkungszeit. Froschventrikelpräparat. Verhalten der relativen Volumina in Testlösung (RV) nach Einwirkung der verschiedenen geprüften Versuchslösungen (VL) (Versuche der Tab. IX). Bezeichnung der Versuchsgruppen (s. oberer Bildrand) nach der Kalium- oder Calciumkonzentration der Versuchslösungen (Prozent des Gehaltes normaler Ringerlösung). Mittlere Reihe: für die verschiedenen Versuchsgruppen bei Prüfung der Glykosidwirkung in normaler Ringerlösung gefundene relative Volumina in Testlösung. Mittel aus je 4 Versuchen.

Das zeitliche Abklingen der Wirkungen kann aus den Werten für D beim Test I und beim Test II beurteilt werden. Abb. 23 zeigt diesbezüglich Folgendes: D_i sinkt rasch ab, D_s kaum. D_{is} nimmt eine Mittelstellung ein. Man hat den Eindruck, daß D_{is} sich D_s nähert. Es wären danach in D_{is} möglicherweise doch zwei Komponenten zu erblicken, die sich im Zeitfaktor unterscheiden, indem die eine sich zeitlich verhält wie D_i, die andere wie D_s. Diese Komponenten sind dann aber jedenfalls, wie die weit von eins abweichenden Werte von R zeigen, nicht durch die einfache Beziehung der Additivität miteinander verknüpft.

2. Meerschweinchenvorhofpräparat

Folgende Versuchslösungen wurden geprüft:

Ohne bzw. mit 1 γ Stroph./ml.

Tyrodelösung ohne Kalium
Tyrodelösung ohne Calcium
Tyrodelösung mit 400 % Kalium
Tyrodelösung mit 800 % Calcium

Tyrodelösung mit 1 γ Stroph./ml.

Die Präparate arbeiteten abwechselnd in Tyrodelösung (NTL) während 15 Minuten und in TL (10 % Ca der NTL) während 10 Minuten. Im Verlauf der NTL-Periode wurde die Lösung nach 10 Minuten erneuert. Die Versuchslösungen wurden während einer NTL-Periode anstelle der NTL nach der 10. Minute zugeführt, verblieben also insgesamt 5 Minuten.

Vier Präparate wurden verwendet, von denen jedes nur drei Versuchslösungen erhielt, nämlich S, dann I und schließlich IS. Diese Reihenfolge ist regelmäßig eingehalten. Zwischen den Versuchslösungen lagen 2—3 Tests.

Nr.	Versuchs-Lösung	RV vor Vers. lösg.	W	R
50	NTL + Stroph.	0,131	22,9 %	
	K 0 %	0,167	73 %	3,43
	K 0 % + Stroph.	0,16	329 %	
51	NTL + Stroph.	0,140	22,9 %	
	Ca 0 %	0,148	—60,8 %	0,56
	Ca 0 % + Stroph.	0,113	—21,6 %	
52	NTL + Stroph.	0,388	54,5 %	
	Ca 800 %	0,304	135 %	1,12
	Ca 800 % + Stroph.	0,285	213 %	
53	NTL + Stroph.	0,096	258,3 %	
	K 400 %	0,163	—19,6 %	0,61
	K 400 % + Stroph.	0,163	145,4 %	

Tabelle X

Die Resultate dieser Versuche (Tab. X und Abb. 24) stimmen mit denen am Esculentenventrikel gut überein, was die Werte von R betrifft: sie sind für K-reiche und Ca-arme Lösungen < 1, für K-arme und Ca-reiche Lösungen > 1. Dagegen sind bei diesen Versuchen die Werte für W_i alle deutlich von Null verschieden (nicht nur wie bei den Versuchen der Tabelle IX die Wirkungen D_i für Ca-reiche Lösungen). Ein Unterschied, der z. T. dafür verantwortlich sein könnte, liegt darin, daß hier nicht Ca-arme und K-arme, sondern K-freie und Ca-freie Lösungen verwendet sind. Einige Versuche am Froschventrikel unter solchen Bedingungen ergaben auch Werte von W_i, die stärker von Null abweichen. Sie sind aber nicht genügend zahlreich und übersichtlich, so daß ihre Wiedergabe gerechtfertigt wäre.

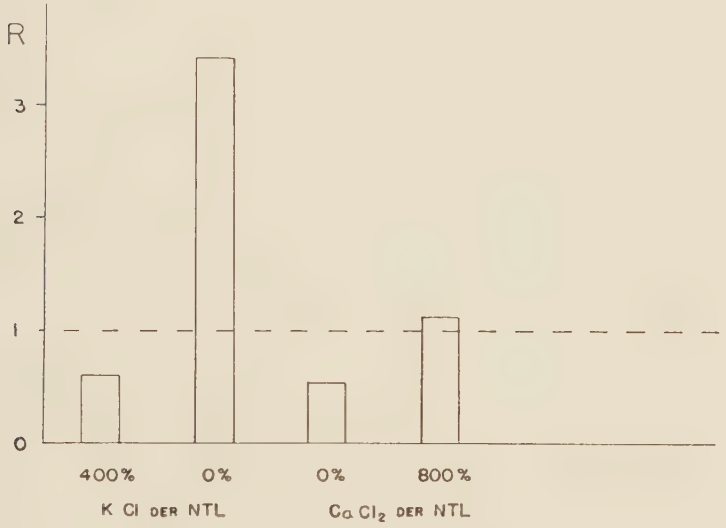

Abb. 24. Meerschweinchenvorhofpräparat: Abhängigkeit der Strophantosidwirkung von der K*- und Ca**-Konzentration während der Einwirkungszeit. R-Werte über 1 bedeuten Verstärkung, unter 1 Abschwächung der Glykosidwirkung gegenüber der in normaler Ringerlösung (s. Abschnitt II, A, 4 f).

IV. Diskussion

Der Zweck der vorliegenden Arbeit war zunächst der, die von Brawand (3) erhobenen Befunde über die Abhängigkeit der Digitaliswirkung von verschiedenen Faktoren mit etwas veränderter Methodik nachzuprüfen und auszubauen. Die Veränderung der Methodik bestand im Ersatz der isometrischen Arbeitsweise des Herzmuskels durch isotonische, während die übrigen Teile der verwendeten Methode (calciumarme Lösung als Test, Auswertungsmethode usw.) unverändert beibehalten wurde. Die neuen Versuche sollten daher auch zur Überprüfung dieser Teile der Methodik dienen.

Die zweite Aufgabe war, mit der überprüften und ausgebauten Methodik zu untersuchen, ob, gemessen an der Reaktion des Herzmuskels gegen calciumarme Lösungen, die Digitaliswirkung abhängt vom Ionenmilieu während der Einwirkungszeit des Glykosids.

Was die Methodik betrifft, so hat sich die neu eingeführte Volumregistrierung mit pneumatischer Verstärkung in zwei Hinsichten bewährt. Einmal erwies sich die Registrierung als zuverlässig, exakt und zweckmäßig. Zweitens war der Wegfall der Schwierigkeiten beim isometrischen Arbeiten ein Vorteil.

Was das übrige Vorgehen betrifft, so sind eine Reihe Erfahrungen gesammelt worden, die auf der einen Seite wertvoll sind für die Verwendung der Methodik, indem sie zu Präzisierungen der experimentellen Bedingungen geführt haben und gewisse Begrenzungen der Methodik erkennen ließen. Auf der anderen Seite ergeben sich aus ihnen Hinweise für die Natur der Calciumwirkung, die ein gewisses Interesse beanspruchen dürfen. Es soll daher, bevor auf die Resultate eingegangen wird, eine Besprechung der methodischen Erfahrungen und der daraus zu ziehenden Schlußfolgerungen in bezug auf die Calciumwirkung vorausgeschickt werden.

1. Erfahrung mit der Methodik des Calciummangeltests und ihre Bedeutung für die Interpretation der Calcium-Wirkung

Zunächst deuten eine Reihe von Beobachtungen darauf hin, daß methodische Einzelheiten eine sorgfältige Beachtung verdienen, die Geschwindigkeit und Ausmaß der erreichten Durchmischung beim Wechsel der Kanülenlösung zu beeinflussen vermögen. Zu ihnen gehört vor allem die Intensität der Spülung, d. h. die Zahl der Lösungswechsel und die Menge der verwendeten Spülflüssigkeit vor der Testperiode. Hierher gehören auch die Lage und Form der Kanüle sowie der Innenkapillare und schließlich die Höhe des Flüssigkeitsdruckes. Alle diese Faktoren be-

einflussen die Durchmischung der neu zugeführten und der vorher im Ventrikel befindlichen Lösung und damit die Endkonzentration der Calciumionen, die erreicht wird.

Daneben erwiesen sich aber auch Faktoren als wichtig, die mit der Wirksamkeit der Durchmischung nichts zu tun haben und die darauf hinweisen, daß noch andere Bedingungen von Einfluß sein müssen. Vor allem ist es die Tatsache, daß bei mehrfacher Wiederholung des Tests die Amplitude fortschreitend abnimmt (Abb. 7) und daß sie von der Ionenzusammensetzung der Ringerlösung v o r Applikation der calciumarmen Testlösung in ausgesprochenem Maße abhängt, insbesondere von der Calcium- und Kaliumkonzentration. Es ist wahrscheinlich, daß diese beiden Einflüsse nahe verwandt sind.

Das Gemeinsame dieser beiden Wirkungsbedingungen liegt darin, daß sie sich nicht auf die zeitliche Phase des Tests selbst beziehen, sondern auf die Zeit vorher, d. h. daß sich Einflüsse der „Vorgeschichte" geltend machen, die sich sicher nicht auf die Durchmischung und nicht ohne weiteres auf die erreichte Calcium-Endkonzentration beziehen lassen.

Zur Deutung dieser Beobachtung ist es zweckmäßig, zunächst die gebräuchlichen Vorstellungen über das Wesen der Calciumwirkung kurz zu diskutieren. Es wird angenommen, daß es sich um eine Membranwirkung handelt, deren Angriffspunkt extrazellulär ist. Das wird einmal aus der hohen Geschwindigkeit geschlossen, mit der sich das Herz veränderter Calciumkonzentration anpaßt, dann aber auch aus der Annahme, daß die Membran für Calciumionen gar nicht durchlässig ist.

Bleibt man zunächst bei dieser Vorstellung, so bieten sich für die Deutung der Einflüsse der „Vorgeschichte" im wesentlichen zwei Möglichkeiten. Einmal könnte es sich um eine Änderung der „Empfindlichkeit" handeln, d. h. es könnte die Wirkung der Calciumionen nicht nur von ihrer Konzentration abhängen, sondern außerdem von irgendwelchen Bedingungen an den Rezeptoren. Auf die Frage einer Empfindlichkeitsänderung wird später zurückzukommen sein.

Die zweite Möglichkeit würde darin bestehen, daß die erreichte Endkonzentration der Calciumionen nicht nur von der Ausgangskonzentration und der zugeführten Lösung sowie den Durchmischungsbedingungen abhängt, sondern noch durch Calciumaustausch mit extramuskulären Calciumspeichern beeinflußt wird. Als solcher käme vor allem das Bindegewebe in Frage, das sich in den Zwischenräumen zwischen den Muskelfasern befindet.

Für die Existenz und für eine solche Auswirkung von Calciumspeichern im Bindegewebe sprechen vor allem zwei Punkte. Einmal ist das Bindegewebe aus histochemischen Untersuchungen als calciumreich bekannt. Zweitens aber sind, wenn die Annahme einer Calciumundurchlässigkeit der Membran aufrechterhalten wird, die Beobachtungen über den Wiedererholungseffekt in calciumarmen Lösungen kaum ohne die Annahme solcher Calciumspeicher zu deuten.

In calciumarmen Lösungen nimmt die zunächst niedrige Amplitude spontan mit einer Geschwindigkeit zu, die in deutlicher Weise von der Größe des Flüssigkeitsvolumens abhängt, d. h. bei kleinem Flüssigkeitsvolumen groß und bei großem Flüssigkeitsvolumen klein ist: am größten ist sie am Ventrikelpräparat bei isometrischer Arbeitsweise (Lévi), kleiner bei isotonischer Arbeitsweise und am kleinsten am Streifenpräparat. Das deutet auf Calciumaustritt in den Ventrikelinhalt: tritt eine bestimmte Menge Calcium pro Zeiteinheit aus, so wird die dadurch bewirkte Konzentrationssteigerung in der beobachteten Weise vom Gesamtvolumen der Flüssigkeit abhängen müssen. Ein Austritt von Calcium ist aber nicht nur aus der Abhängigkeit des Wiedererholungseffektes vom Volumen abzuleiten, sondern ist auch analytisch nachgewiesen worden (Böhm [2]). Sind die Membranen der Muskelfasern undurchlässig für Calcium, so kann dieses Calcium nur aus den Grenzflächen der Muskelfasern oder aus extramuskulären Speichern stammen. Eine einfache Rechnung zeigt zunächst, daß die Fasergrenzflächen als Quelle für das Calcium kaum in Betracht fallen dürften. Nimmt man an, daß (entsprechend einer Schätzung Clarks [5]) die Gesamtoberfläche von 1 Gramm Muskel (Feuchtgewicht) 6600 cm² beträgt[1]), so ergibt sich für ein Herz mit 50 mg Feuchtgewicht bei einem Lösungsinhalt (Kammer + Kanüle) von 1,8 ml folgendes: Ist die gesamte Oberfläche in dichter Packung mit Ca** besetzt (50 Å²/Ca**-Ion), und entleert sich das gesamte Oberflächencalcium restlos in die Lösung, so steigt die Konzentration um 0,06 mmol. Berechnet man für den Versuch der Abb. 4 die Zunahme der Calciumkonzentration, die das relative Volumen von 0,3 auf 0,5 ansteigen lassen würde (was ungefähr dem beobachteten Wiedererholungseffekt entspricht), so ergibt sich ein Anstieg von 0,3 mmolar auf 0,52 mmolar, also um 0,22 mmolar.

Selbst unter den erwähnten extremen Bedingungen würde also das gesamte verfügbare Oberflächen-Calcium nicht reichen, um den beobachteten Wiedererholungseffekt zu decken. Wichtiger noch scheint aber folgendes. Wenn die Grenzfläche der Sitz der Calciumwirkung ist, sind diese Wirkungen offenbar durch die Grenzflächenkonzentration des Calciums bedingt. Es ist danach nicht möglich, zunehmende Calciumwirkung durch einen Vorgang zu deuten, bei dem diese Konzentration fällt. Es wäre nur möglich unter der Annahme, daß der größte Teil des an der Oberfläche gebundenen Calciums erstens inaktiv (ohne zu wirken) gebunden ist, und daß zweitens die Freisetzung aus dieser dominierenden Fraktion viel langsamer erfolgt als von den für die Wirkung maßgebenden Rezeptoren. Das wäre aber nichts anderes als wiederum ein (nun aber in der Membran lokalisierter)

[1]) Unter Annahme zylindrisch geformter Muskelfasern läßt sich das Verhältnis Oberfläche/Volumen berechnen nach $O/V = 2/r$. Bei Berücksichtigung des spezifischen Gewichts des feuchten Froschventrikels (nach unveröffentlichten Untersuchungen von Moulin) von ca. 1,2 und eines extrazellulären Volumanteils von 20 % ergibt sich daraus ein etwas niedrigerer Wert von 5320 cm² g Feuchtgewicht für einen mittleren Faserdurchmesser von 5.10^{-4} cm (nach F. Marceau, Ann. Scienc. nat. Zoologie 19, 191, 1904; sowie nach Untersuchungen von Moulin an Esculentenventrikeln, unveröffentlicht).

extrazellulärer Calciumspeicher. Die (auf jeden Fall notwendige) Annahme der langsameren Abgabe des Calciums aus dem Speicher scheint plausibler, wenn der Speicher Bindegewebe ist.

Daß andererseits der Wiedererholungseffekt nicht auf einer Änderung der oben diskutierten Empfindlichkeit beruhen kann, ergibt sich aus dem Erfolg eines Lösungswechsels. Hat der Wiedererholungseffekt in calciumarmer Lösung ein gewisses Ausmaß erreicht und wird die Lösung erneuert, so kehrt die Amplitude sofort wieder auf das niedrige Ausgangsniveau zurück, um dann wieder langsam anzusteigen (Abb. 25).

Bei Undurchlässigkeit der Membran für Calcium bleiben also für die Deutung des Einflusses der „Vorgeschichte" nur Änderungen in den extramuskulären Calciumspeichern.

Die bisher beibehaltene Annahme der Undurchlässigkeit der Muskelmembran für Calciumionen ist aber andererseits keineswegs experimentell genügend gesichert, um als zuverlässige Diskussionsbasis akzeptiert zu werden. K r o g h , L i n d b e r g und S c h m i d t - N i e l s e n (17) haben versucht, unter Berücksichtigung des extrazellulären Raumes die Calciumkonzentration im Inneren der Herzmuskelfasern zu ermitteln und kamen zu einer Konzentration von 4—9 mmolar, was nicht unbeträchtlich über der Calciumkonzentration einer normalen Ringerlösung liegen würde (1—2 mmolar, in unseren Versuchen 1,8 mmolar). Allerdings ist in diesen Versuchen das Bindegewebe nicht berücksichtigt worden, so daß sie kaum schlüssig erscheinen.

Am quergestreiften Muskel hat G i l b e r t (unveröffentlichte Arbeit) mit Isotopen-Methodik versucht, die Calciumverteilung zu analysieren. Aus den Aufnahmekurven schließt er, daß neben dem extrazellulären Flüssigkeitsraum zwei weitere extrazelluläre Fraktionen existieren. Eine sehr rasch Calcium aufnehmende Fraktion wird als das Perimysium externum interpretiert, eine zweite, langsamer austauschende, als das Perimysium internum. Eine dritte Fraktion tauscht Calcium

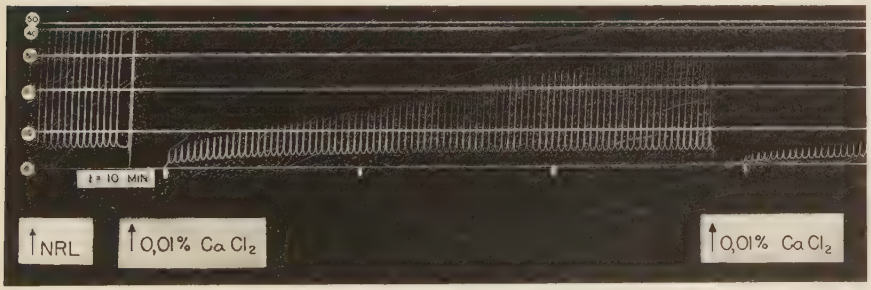

Abb. 25. Rückkehr der in calciumarmer Lösung sich wieder erholenden Druckamplitude auf ihr niedriges Ausgangsniveau nach Erneuern der calciumarmen Lösung. Isometrisch arbeitendes Froschventrikelpräparat. Eichwerte in cm H_2O (nach L é v i).

überhaupt nicht aus, und schließlich bleibt eine letzte Fraktion, die als intrazelluläres Calcium betrachtet wird. Die Calciumionenkonzentration in diesem Raum ist niedriger als die Außenkonzentration, was zur Annahme einer „Calciumpumpe" führte.

Für andere Zellen, die ebenfalls als impermeabel für Calcium betrachtet worden sind, existieren neuere Beobachtungen, die diese Annahme widerlegen. Ponder (23) hat an roten Blutkörperchen zeigen können, daß sie aus einer Calciumchloridlösung bei niedriger Temperatur reichlich Calcium aufnehmen. Hodgkin (11) hat am Riesenaxon der Tintenfischnerven gezeigt, daß in das Zellinnere injiziertes Calcium durch die Membran nach außen transportiert wird, daß also ein aktiver Transportmechanismus besteht. Er konnte außerdem zeigen, daß die normale Calcium-Innenkonzentration außerordentlich niedrig ist und noch dazu zum größten Teil aus gebundenem Calcium besteht. Die Calciumionenkonzentration liegt nach diesen Beobachtungen um mehrere Größenordnungen tiefer, als dem Gleichgewicht entsprechen würde, so daß ein sehr wirksamer aktiver Transportmechanismus angenommen werden muß.

Schließlich ist von Wilbrandt (27) darauf hingewiesen worden, daß die ausgesprochene Wirkung der Calciumionen auf die Kontraktion der Muskelfaser sehr schwer verständlich ist, wenn es sich um eine Membranwirkung handelt, und daß anderseits Beobachtungen am Actomyosin bzw. an Fasermodellen (glycerinextrahierte Muskelfasern) sehr intensive Calciumwirkungen in überraschend niedrigen Konzentrationen gezeigt haben. Die Annahme einer niedrigen Konzentration von Calciumionen im Inneren der Fasern, die die Intensität des Kontraktionsvorganges beeinflussen würde, stände danach einerseits in Übereinstimmung mit Untersuchungen an Actomyosinfasern und würde anderseits bei Bestehen von Austauschmechanismen durch die Zellmembran hindurch eine einfache und plausible Erklärung für die auffälligen Wirkungen der Calciumkonzentration im extrazellulären Raum auf die Kontraktionsstärke erlauben. Wilbrandt hat auf Grund solcher Überlegungen angenommen, daß Herzglykosid eine „Calciumpumpe" lähmt.

Es würde dann ein stationärer Zustand zwischen dem Einwärtsstrom von Calcium während der Erregung und dem Auswärtstransport während der Erholung bestehen, der im einfachsten Fall bei Proportionalität zwischen Geschwindigkeit und Ionenkonzentration durch folgende Beziehung charakterisiert gedacht werden kann:

$$v_I = K_I \, [Ca_a] \qquad (1)$$

$$v_{II} = K_{II} \, [Ca_i] \qquad (2)$$

mit v_I und v_{II} = Transportgeschwindigkeiten einwärts und auswärts,

K_I und K_{II} = Geschwindigkeitskonstanten der Transporte,

$[Ca_i]$ und $[Ca_a]$ = Calciumkonzentrationen innen und außen.

Wenn der Transport I nur während der Erregungen (E) und der Transport II nur während der Erholung (R) erfolgt und wenn die zugehörigen Zeiten t_E (Er-

regungszeit) und t_R (Erholungszeit) sind, wäre dann der stationäre Zustand gegeben durch

$$v_I t_E = v_{II} t_R \tag{3}$$

oder

$$K_I [Ca_a] t_E = K_{II} [Ca_i] t_R \tag{4}$$

woraus sich ergibt

$$[Ca_i] = \frac{t_E}{t_R} \frac{K_I}{K_{II}} [Ca_a] \tag{5}$$

Die im stationären Zustand sich einstellende Innenkonzentration des Calciums $[Ca_i]$ würde danach abhängen von der Außenkonzentration $[Ca_a]$, vom Verhältnis zwischen Erregungszeit und Erholungszeit t_E/t_R (d. h. von der Reizfrequenz) und von den beiden Transportkonstanten K_I und K_{II}.

Kehren wir nun zu der Beeinflussung der Testamplitude durch die „Vorgeschichte" zurück, so ergeben sich aus der eingeschalteten Diskussion über Natur und Bedingungen der Calciumwirkung verschiedene Möglichkeiten für ihre Deutung. Drei davon seien kurz diskutiert: erstens Änderung des Calciumgehaltes der extrazellulären Speicher, zweitens Änderung der intrazellulären Calciumkonzentration in der Muskelfaser unmittelbar vor dem Test und drittens bleibende Änderung der Transportkonstante.

Erfolgt die Gleichgewichtseinstellung mit den extramuskulären Speichern relativ langsam (wofür der Wiedererholungseffekt spricht, s. o.), so ist es denkbar, daß sie trotz mehrfacher und gründlicher Spülung die Endkonzentration des extrazellulären Calciums doch noch beeinflußt. Darauf könnte die Wirkung veränderter Calciumkonzentrationen in der Vorperiode beruhen (unter Umständen auch andere Nachwirkungen der „Vorgeschichte").

Die zweite Größe, die intrazelluläre Calciumkonzentration vor der Testphase, wird ebenfalls durch die Vorperiode verändert werden können, sofern Calciumaustausch durch die Membran stattfindet. Die Auswirkung solcher Veränderungen auf die Testamplitude bietet dem Verständnis aber größere Schwierigkeiten, da nach Gleichung (5) die Calciuminnenkonzentration im stationären Zustand nur eine Funktion der Außenkonzentration, nicht dagegen der vorher bestehenden Innenkonzentration sein sollte. Im Rahmen der hier benützten Vorstellungen könnte also eine Änderung der Calciuminnenkonzentration das Verständnis der Beeinflussung des Tests durch die „Vorgeschichte" ohne Einführung weiterer Annahmen nicht erleichtern.

Dagegen scheint es nicht ausgeschlossen, daß die Größe K_{II} in Gleichung (5) eine Bedeutung hat, wenn nämlich durch die Vorbehandlung mit verändertem Ionenmilieu diese Transportkonstante eine Veränderung erfährt, die die Milieuänderung überdauert. Das würde z. B. möglich erscheinen, wenn zwischen Natrium

und Calcium kompetitive Beziehungen bezüglich der Pumpe bestehen. Die Folge einer Vorperiode mit kaliumfreier Lösung könnte dann eine Anreicherung von Natrium im Faserinneren sein, die noch eine Zeitlang nach Normalisierung der Außenlösung bestehen bleibt und die durch Verdrängung des Calciums vom Träger die Größe K_{II} für diese Zeit herabsetzt.

2. Die Abhängigkeit der Glykosidwirkung von verschiedenen experimentellen Faktoren

Erstens stellte sich die Frage nach der Empfindlichkeit des Tests, d. h. nach der Schwellenkonzentration, bei der Wirkungen gerade noch erfaßt werden können. Die Schwelle der Wirksamkeit liegt nach den wiedergegebenen Versuchen (die allerdings durch starke Streuung belastet sind) etwa bei 0,1 γ Strophantosid pro ml Lösung, also bei einer Konzentration von 1:10 Millionen. Sie liegt damit an der unteren Grenze des Konzentrationsbereichs, mit dem Wirkungen am Papillarmuskel nach dem Verfahren von Cattell und Gold (4) nachweisbar gemacht werden können. Die Empfindlichkeit des Tests ist also recht hoch, was als weiterer Hinweis darauf gewertet werden darf, daß der Test etwas für die Herzglykosidwirkung Wesentliches erfaßt.

Die Reversibilität der Herzglykosidwirkung bei Verwendung des Kriteriums ist nicht vollkommen, aber die Wirkung geht nach Entfernung des Glykosids deutlich zurück. Die Amplituden in der calciumarmen Testlösung nähern sich meist im Lauf der Zeit wieder dem Ausgangsniveau, ohne es jedoch innerhalb der Beobachtungsdauer zu erreichen. Es ist darauf hinzuweisen, daß die „Auswaschbarkeit" des Glykosids, wie sie sich in Versuchen mit normaler Ringerlösung prüfen läßt, ein relativ grobes Kriterium darstellt. Demgegenüber scheint der Test mit calciumarmer Lösung feinere Veränderungen aufzudecken.

Nicht nur die Reversibilität nach einer einzelnen Glykosidgabe ist beschränkt, sondern es nimmt auch die Empfindlichkeit des Präparates gegen wiederholte Glykosidgaben, gemessen mit dem verwendeten Test, ab. Ob diese Eigenschaft allerdings von derjenigen der Reversibilität zu trennen ist, ist fraglich.

In bezug auf die Resultate zur Analyse der Herzglykosidwirkung sei zunächst kurz auf die Versuche eingegangen, die sich an die Brawand'schen anschließen. Der Hauptunterschied in der Methodik besteht in der Verwendung isotonischer statt isometrischer Kontraktion. Außerdem konnte die Zuverlässigkeit des Tests verbessert werden, so daß es möglich wurde, die Versuche an wenigen Präparaten durchzuführen, für die Brawand ein größeres Versuchsmaterial an zahlreichen Herzen mitteln mußte.

Die Abhängigkeit der Glykosidwirkung von der Zahl der Herzkontraktionen während der Einwirkungszeit, die Brawand beschrieben hat, bestätigte sich auch bei der veränderten Versuchsanordnung. Es zeigte sich jedoch, daß auch in Leerversuchen ohne Herzglykosid

bei gleichen Einwirkungszeiten und gleichen Kontraktionsintervallen entsprechende Unterschiede der Testamplituden nachweisbar sind, so daß zunächst der Eindruck besteht, die Resultate mit Glykosid seien in bezug auf die Abhängigkeit von der Kontraktionszahl mit denen der Kontrollversuche identisch und die Abhängigkeit hätte mit der Natur der Glykosidwirkung nichts zu tun.

Da jedoch die Abhängigkeit bei den Kontrollversuchen offenbar auf dem Treppenphänomen beruht, und da andererseits das Treppenphänomen durch Glykosid unterdrückt wird, ist diese einfache Argumentation unzulänglich, und folgende Überlegung scheint adäquater.

Wenn das Glykosid durch Lähmung eines aktiven Ionentransportes während der Erholung den oben (S. 64) diskutierten stationären Zustand stört, so verschiebt sich die betreffende Ionenkonzentration in der Zelle im Fall des Calciums nach oben, im Fall des Kaliums nach unten. Der Glykosideffekt rührt also dann (unabhängig davon, welches Ion betroffen bzw. welches der betroffenen Ionen entscheidend ist) davon her, daß die Erholungsverschiebung im Vergleich zur Erregungsverschiebung geschwächt wird. Daß ein solcher Effekt durch Erhöhung der Zahl der Erregungen (d. h. also durch Steigerung der Erregungsverschiebung) verstärkt wird, ist dann zu erwarten. Die Abhängigkeit der Wirkung von der Kontraktionszahl ist dann also doch eine Konsequenz der Natur der Glykosidwirkung.

Eine quantitative Formulierung dieser Überlegungen kann von den Gleichungen (1)—(5) ausgehen. Unter den Bedingungen der vorliegenden Versuche wird die Annahme nicht zutreffen, daß der stationäre Zustand sich eingestellt hat. Gleichung (3) wird daher nicht gelten. Die beiden Ionenströme werden nicht gleich sein, sondern die während der Glykosideinwirkungszeit erfolgte Ionenverschiebung wird, wenn einfachheitshalber für das Faservolumen der Wert eins angenommen wird, durch die Differenz der beiden Ionenströme gegeben sein:

$$\triangle \left[Ca_i \right] = v_I t_E - v_{II} t_R = K_I t_E \left[Ca_a \right] - K_{II} t_R \left[Ca_i \right] \qquad (6)$$

Daraus ergibt sich, daß Erhöhung von t_E gleichsinnig wie Senkung von K_{II} zur Erhöhung von $[Ca_i]$ führt. Außerdem aber erhält man für Paare mit gleichem t_E (gleiche Zahl von Kontraktionen), aber mit und ohne Glykosid (d. h. mit verschiedenem K_{II}, nämlich $K_{II} = K_{IIGl}$ bzw. $= K_{IIKo}$) folgendes: Der Unterschied des Innencalciumgehalts unter diesen Bedingungen ergibt sich durch Subtraktion der entsprechenden Gleichungen (6):

$$\triangle Ca_{iGl} - \triangle Ca_{iKo} (K_{IIKo} - K_{IIGl}) t_R \left[Ca_i \right] \qquad (7)$$

Der Unterschied ist also von t_E unabhängig und nur durch $(K_{IIKo} - K_{IIGl})$ d. h. durch die Glykosidkonzentration bestimmt. Auftragen von $\triangle Ca_i$ gegen t_E (oder gegen die Kontraktionszahl) sollte danach zwei parallele Kurven ergeben. Proportionalität zwischen $[Ca_i]$ und Testamplitude vorausgesetzt, ergibt sich also auf diese Weise das in Abb. 17 dargestellte Verhalten als Postulat.

Die Abhängigkeit der Strophantosidwirkung von der Konzentration ergab Resultate, die von denen Brawands etwas abweichen. Ein Sättigungsniveau in bezug auf die Konzentration konnte im Bereich von 0,1—4,8 γ Strophantosid/ml nicht erreicht werden, dagegen zeigt die Kurve einen leicht nach oben konvexen Verlauf, der vermutlich auf das Eintreten einer Sättigung bei höherer Konzentration hindeutet. Ob bzw. wie weit für diesen Unterschied die Differenz der Methodik, vor allem die Verwendung isotonischer statt isometrischer Tätigkeit des Präparates verantwortlich zu machen ist, bleibt zu prüfen. Vielleicht ist auch hier dem Unterschied im Lösungsvolumen Bedeutung beizumessen.

Die Versuche schließlich über die Abhängigkeit der Glykosidwirkung von den Ionenkonzentrationen stellten die Hauptaufgabe dar, die für die vorliegende Arbeit gestellt war. In Analogie zum Nerven, wo die Abhängigkeit des Aktionspotentials von der Natriumkonzentration in mehrfacher Hinsicht als quantitativer Hinweis auf die Beteiligung eines Natriumtransports benützt wurde, sollte geprüft werden, ob die Digitaliswirkung durch Änderungen der Ionenkonzentrationen beeinflußt wird und ob positiven Falles aus der beobachteten Wirkung Rückschlüsse auf Art und Richtung der beteiligten Ionentransporte gezogen werden können.

Daß Herzglykoside Ionentransporte beeinflussen, hat Schatzmann (24) am Erythroctyen gezeigt. Die Natrium-Kalium-Pumpe, die Natrium aus der Zelle und Kalium in die Zelle befördert, beides in aktiver Weise (entgegen dem Gefälle) wird durch Herzglykosid gelähmt. Die Befunde sind inzwischen in mehreren Laboratorien bestätigt und erweitert worden, so von Glynn (6), von Kahn und Acheson (16), sowie von Joyce und von Weatherall (15).

Auf einen Angriff an Kaliumtransporten, auch am Herzmuskel, hatten Szent-Györgyi und Hajdu (9) aus Versuchen geschlossen, die die Bowditchsche Treppe als Kriterium benützen: Kaliumfreie Lösung sowohl als Herzglykosid vermindern die als Folge einer Kaliumanreicherung in der Muskelfaser gedeutete Treppe.

Da andererseits auch den Calciumionen eine ausgesprochene Beziehung zur Digitaliswirkung zukommt, sowohl nach den experimentellen Beobachtungen von Loewi als auch nach klinischen Erfahrungen über die Steigerung der Digitalistoxizität durch Calcium und schließlich nach den Befunden von Moulin und Wilbrandt (21) über die Unterdrückung der Bowditchschen Treppe in calciumreichen Ringerlösungen, war neben Kalium in erster Linie auch an Calcium zu denken. Wenn, wie mehrfach gezeigt bzw. angenommen, die Digitaliswirkung auf einer Transporthemmung für Ionen beruht, so ergeben sich vor allem zwei Möglichkeiten: Hemmung einer Kaliumverschiebung in die Muskelfaser hinein, entsprechend der Annahme von Szent-Györgyi und Hajdu, oder Hemmung einer Calciumverschiebung aus der Faser heraus oder beides.

Die Versuche über die Beeinflussung der Digitaliswirkung durch Änderungen der Ionenkonzentrationen wurden in der Hoffnung ausgeführt, zur Beantwortung dieser Fragen einen Beitrag zu erhalten. Sie sollten erstens zeigen, ob die Digitaliswirkung überhaupt von den Ionenkonzentrationen während der Glykosidanwesenheit abhängt und zweitens ob eine solche Abhängigkeit Hinweise gibt für die an den Transporten beteiligten Ionen, insbesondere für die Alternative „Lähmung einer Kaliumpumpe" versus „Lähmung einer Calciumpumpe" als Grundlage der inotropen Glykosidwirkung.

Die Resultate ergaben zunächst, daß die Änderung der Ionenkonzentration allein, die in Kontrollversuchen untersucht werden mußte, bereits eine Wirkung auf den Calciummangeltest ausüben kann (obwohl während der Testperiode die Ionenkonzentrationen unverändert blieben). Wenn der Calciummangeltest ein Kriterium für die Digitaliswirkung ist und wenn die Digitaliswirkung an Ionentransporten angreift, war ein solcher Effekt an sich nicht ganz unerwartet. Calciumüberschuß erwies sich wirksam in Richtung der Digitaliswirkung, Kaliumüberschuß in der Gegenrichtung, aber sehr viel schwächer.

Die Deutung dieser Wirkungen ist schon diskutiert worden. Für die Prüfung der Frage, wieweit die Digitaliswirkung durch Ionenänderungen beeinflußt wird, mußten sie als Korrektur berücksichtigt werden, was in Form der Berechnung des Quotienten R geschah.

Gemessen am Wert R nun ergab sich eine deutliche Wirkung sowohl der Kalium- als der Calciumionen. Calciumüberschuß und Kaliummangel verstärkten die Digitaliswirkung, Kaliumüberschuß schwächt sie deutlich ab. Herabsetzung der Calciumkonzentration auf 15 % war praktisch unwirksam.

Es scheint wahrscheinlich, daß sofern die Digitaliswirkung eine Wirkung auf Ionentransporte ist, im Anschluß an eine Digitalisperiode zwei verschiedene Arten von Nachwirkungen auftreten können: einerseits bleibende Änderungen der Transporte, und andererseits Residuen der während der Digitalisperiode erfolgten Ionenverschiebungen.

Die persistenteste Beeinflussung der Digitaliswirkung war diejenige in kaliumarmen Lösungen. Calciumüberschuß bewirkte eine Steigerung der Digitaliswirkung bei mäßigen Graden, bei sehr hohen Calciumkonzentrationen kehrte sich die Wirkung dagegen wieder um.

Was nun die Frage betrifft, ob Kalium- oder Calciumverschiebungen oder beides als Angriffspunkt für die Digitaliswirkung zu betrachten sind, so zeigen die Versuche zunächst, daß beide Ionenarten von Einfluß sind. Die zu entscheidende Frage ist, ob der Einfluß des Calciums daher rührt, daß ein Calciumtransport durch die Membran stattfindet oder daher, daß Calcium die Kaliumverschiebungen in ähnlicher Richtung beeinflußt wie Digitalis, ohne dabei selbst die Membran zu passieren. Beides könnte die beobachteten Wirkungen von Änderungen der Calciumkonzentrationen erklären.

Was die Deutung der Digitaliswirkung als einer Hemmung der Kaliumanreicherung in den Fasern befriedigend werden läßt, ist nur bei näherer Überlegung gerade die höchst intensive und am längsten persistente Wirkung von kaliumarmen Lösungen. Diese Wirkung ist deutlich überadditiv, d. h. der Wert von R ist wesentlich größer als 1. Das bedeutet, daß die Digitaliswirkung bei Kaliummangel stärker ist als die Summe der Digitaliswirkung in Normalringer und einer kaliumarmen Ringerlösung ohne Digitalis. Die Wirkung des Kaliummangels addiert sich also nicht nur zu derjenigen des Herzglykosids, sondern verstärkt sie.

Gleichberechtigt ist die Aussage, das Herzglykosid verstärke die Wirkung der kaliumarmen Lösung. Das ist aber dann nicht möglich, wenn das Wesentliche für die Digitaliswirkung eine Hemmung der Kaliumanreicherung im Faserinneren ist. Da in kaliumfreier Lösung das Kalium im Faserinnern sich nicht erhöhen kann, ist die Wirkung einer solchen Lösung (wenn sie wirklich gar kein Kalium enthält) notwendigerweise maximal und kann nicht weiter gesteigert werden. Wenn daher Digitalis sie tatsächlich verstärkt, wie die Versuche am Meerschweinchenvorhof zeigten, und wie dies auch in einzelnen Versuchen am Ventrikelpräparat sehr ausgesprochen der Fall war, muß sie mindestens zum Teil andere Ursachen haben.

Die Versuchsresultate deuten somit nicht nur auf eine Beteiligung von Calcium im Sinne einer digitalisähnlichen Wirkung an der Membran auf Grund einer Hemmung des Kaliumtransportes in die Zelle, sondern auf weitere Wirkungen, womit die mehrfach diskutierte Annahme einer Calciumverschiebung durch die Membran, die durch Digitalis beeinflußt wird, an Wahrscheinlichkeit gewinnt.

V. Zusammenfassung

Der von Brawand erstmals zur Untersuchung von Herzglykosidwirkungen am isometrisch arbeitenden Froschventrikelpräparat angewandte Test — beruhend auf dem Verhalten der Kontraktionsamplitude in calciumarmer Ringerlösung nach einer Glykosidphase — wurde für die vorliegenden Untersuchungen am elektrisch gereizten isotonisch arbeitenden Froschventrikel übernommen. Der Test bietet den Vorteil, daß die Wirkung des Glykosids von seiner Einwirkung zeitlich getrennt verfolgt werden kann. Einige Versuche wurden auch am elektrisch gereizten isometrisch arbeitenden Froschventrikelstreifenpräparat und am spontan schlagenden Meerschweinchenvorhof mit sonst gleicher Methodik ausgeführt.

Eine Reihe von Bedingungen, deren Einfluß der Test unterworfen ist, wurden näher untersucht. Dadurch konnte die Verwendbarkeit des Tests verbessert und die Streuung der Versuchsergebnisse herabgesetzt werden. Die Empfindlichkeit der Methode auf k-Strophantosid kann (nach einer mit starker Streuung belasteten Bestimmung) durch eine Schwellenkonzentration von etwa 0,1 γ/ml angegeben werden.

Eine gewisse Reversibilität der Glykosidwirkung war deutlich, sie war aber unvollständig.

Etwas störend war, daß die Präparate im Verlauf aufeinanderfolgender Applikationen von Glykosid rasch an Empfindlichkeit verloren, d. h. daß die Glykosidwirkung abnahm. Wieweit diese Empfindlichkeitsabnahme und die Unvollständigkeit der Reversibilität wesensgleich sind, bleibt offen.

Die von Brawand festgestellte Abhängigkeit der Glykosidwirkung von der Kontraktionszahl während der Einwirkungszeit wurde bestätigt. Kontrollversuche ergaben auch ohne Glykosid eine parallel verlaufende Abhängigkeit. Das ist, wie gezeigt wird, zu erwarten, wenn das Glykosid einen aktiven Ionentransport hemmt und wenn dieser Transport eine Ionenverschiebung kompensiert, die im Verlauf der Erregung erfolgt war.

In bezug auf die Abhängigkeit der Strophantosidwirkung von der Konzentration des Glykosids hatte Brawand mit isometrischer Methodik eine Sättigungskurve mit annähernd konstanter Wirkung oberhalb von 0,5 γ/ml Glykosid gefunden. Im Gegensatz dazu ergaben die vorliegenden Versuche mit isotonischer Registrierung bis zu einer Konzentration von 4,8 γ/ml kein eindeutiges Sättigungsniveau, aber doch einen noch oben konvexen Verlauf, der auf mögliche Sättigung bei höheren Konzentrationen hindeutet.

Die Hauptaufgabe der Untersuchungen war, zu prüfen, ob die Glykosidwirkung von den Ionenkonzentrationen während der Einwirkung des Glykosids ab-

hängt, ob sich daraus Hinweise für den Angriff des Glykosids an Ionentransporten ergeben und positiven Falles an welchen.

Die Ergebnisse zeigten zunächst, daß Änderungen der Ionenkonzentrationen während der Periode vor einem Test bereits ohne Glykosid die Amplitude im Test beeinflussen können. Besonders gilt das für calciumreiche Lösungen. Kaliumarme und calciumarme Lösungen waren bei den gewählten Versuchsanordnungen weniger wirksam. Diese Nachwirkungen veränderter Ionenkonzentrationen wurden bei der Beurteilung der Frage, ob die Glykosidwirkung vom Ionenmilieu abhängt, durch Quotientenbildung berücksichtigt:

$$R = \frac{W_i + W_s}{W_{is}}$$

W_i = Wirkung veränderter Ionenkonzentrationen

W_s = Wirkung von Strophantin in normalem Ionenmilieu

W_{is} = Wirkung von Strophantin bei veränderter Ionenkonzentration.

$R > 1$ bedeutet Verstärkung der Glykosidwirkung

$R < 1$ bedeutet Abschwächung der Glykosidwirkung.

Nach dieser Prüfung verstärkt Kaliummangel und Calciumüberschuß die Wirkung (am Froschventrikel R = 2,51 für 15 % Kalium, 1,28 für 161 % Calcium, 1,42 für 258 % Calcium, aber 0,56 für 666 % Calcium; am Meerschweinchenvorhof R = 3,43 für 0 % Kalium, 1,12 für 800 % Calcium), während Calciummangel und Kaliumüberschuß sie weniger ausgesprochen abschwächen (am Froschventrikel R = 0,12 für 666 % Kalium, 1,07 für 15 % Calcium; am Meerschweinchenvorhof R = 0,61 für 400 % Kalium, 0,56 für 0 % Calcium).

Besonders ausgesprochen ist der Einfluß veränderter Kaliumkonzentration auf die Glykosidwirkung. Aus der Tatsache, daß kaliumfreie Lösung die stärkste Veränderung der Glykosidwirkung hervorrief, ist Folgendes abzuleiten. Wenn das Wesentliche der Digitaliswirkung auf die Kontraktion eine Hemmung der Kaliumanreicherung im Faserinneren wäre, könnte die notwendigerweise maximale Wirkung einer kaliumfreien Lösung im Sinne einer solchen Hemmung durch Zusatz von Glykosid nicht weiter verstärkt werden. Die Tatsache, daß sie tatsächlich durch Glykosid sehr ausgesprochen verstärkt wird, spricht daher gegen die genannte Deutung. Es wird daher darin eine weitere Stütze für die Annahme gesehen, daß neben Natrium auch Calcium bei der Erregung in die Faser eintritt und in der Erholung hinaustransportiert wird, daß Digitalis auch diesen aktiven Auswärtstransport des Calciums hemmt, und daß die Digitaliswirkung auf die Kontraktion in erster Linie eine Folge erhöhter Calciumkonzentration im Faserinnern ist.

VI. Literatur

1. Arima R., Über Spontanerholung des Froschherzens bei unzureichender Kationenspeisung.
   Pflügers Archiv 157, 531 (1914).
2. Böhm R., Über das Verhalten des isolierten Froschherzens bei reiner Salzdiät.
   Arch. exp. Path. und Pharm. 75, 230 (1914).
3. Brawand K., Zur Frage des Wirkungsmechanismus der Herzglykoside.
   Dissertation Bern 1954.
4. Cattell Mc K. and Gold H., The influence of Digitalis glucosides on the force of contraction of mammalian cardiac muscle.
   J. Pharmacol. and exp. Ther. 62, 116 (1938).
5. Clark A. J., The metabolism of the frog's heart.
   Edinburgh (1938). (Zit. nach Hajdu.)
6. Glynn I. M., Linked Na and K movement in human red cells.
   J. Physiol. 126, 35 (1954).
7. Hajdu S., Mechanism of staircase and contracture in ventricular muscle.
   Am. J. Physiol. 174, 371 (1953).
8. Hajdu S. and Szent-Györgyi A., Action of DOC and serum on the frog heart.
   Am. J. Physiol. 168, 159 (1952).
9. Hajdu S. and Szent-Györgyi A., Action of Digitalis glucosides on isolated frog heart.
   Am. J. Physiol. 168, 171 (1952).
10. Hodgkin A. L., The ionic basis of electrical activity in nerve and muscle.
    Biol. Rev. 26, 339 (1951).
11. Hodgkin A. L., Nach einem Vortrag, gehalten in Bern, November 1955.
12. Hodgkin A. L. and Keynes R. D., Movements of Cations during Recovery in Nerve.
    Symp. Soc. exper. Biol. 8, 423 (1954).
13. Hodgkin A. L. and Keynes R. D., Active transport of cations in giant axons from Sepia and Loligo.
    J. Physiol. 128, 28 (1955).
14. Hodgkin A. L. and Keynes R. D., The potassium permeability of giant nerve fibre.
    J. Physiol. 128, 61 (1955).
15. Joyce C. R. B. and Weatherall M., Cardiac glycosides and the potassium exchange of human erythrocytes.
    J. Physiol. 127, 33 P (1955).
16. Kahn J. B., Kahn I. R. and Acheson G. H., Effects of cardiac glycosides and other lactones, and of certain other components, on cation transfer in human erythrocytes.
    J. Pharmacol. and exp. Ther. 155, 305 (1955).

17. Krogh A., Lindberg A.-L. and Schmiedt-Nielsen B., The exchange of potassium and calcium between the frog heart muscle and the bathing fluid.
Acta physiol. Scand. 7, 221 (1944).

18. Lévi B., Die Abhängigkeit der Strophantosidwirkung auf das Froschherz von der Tätigkeit des Herzens.
Dissertation Bern 1953.

19. Loewi O., Über den Zusammenhang zwischen Digitalis- und Calciumwirkung.
Arch. exp. Path. Pharm. 82, 131 (1918) sowie 83, 366 (1918).

20. Matchett P. A. and Johnson J. A., Inhibition of sodium and potassium transport in frog sartorii in the presence of Ouabain.
Federation Proc. 13, 1260 (1954).

21. Moulin M. und Wilbrandt W., Die Wirkung von Kalium und Calcium auf das Treppenphänomen am Froschherzen.
Experientia XI, 72 (1955).

22. v. Muralt A., Einführung in die praktische Physiologie.
Berlin 1944.

23. Ponder E., Volume changes, ion exchanges, and fragilities of human red cells in solutions of the chlorides of the alcaline earthes.
J. Gen. Physiol. 36, 767 (1953).

24. Schatzmann H.-J., Herzglykoside als Hemmstoffe für den aktiven Kalium- und Natriumtransport durch die Erythrocytenmembran.
Helv. Physiol. Acta 11, 346 (1953).

25. Schatzmann H.-J. and Witt P. N., Action of K-Strophanthin on potassiumleakage from frog Sartorius muscle.
J. Pharmacol. and exp. Ther. 112, 501 (1954).

26. Szent-Györgyi A., Chemical physiology of contraction in body and heart muscle.
New York 1953.

27. Wilbrandt W., Zum Wirkungsmechanismus der Herzglykoside.
Schweiz. med. Wschr. 85, 315 (1955).

28. Wilbrandt W. und de la Cuadra J. L., Mechanische Druckverstärkung und Druckübertragung mit geringer Volumverschiebung.
Helv. Physiol. Acta 5, 272 (1947).

29. Wilbrandt W., Ryser H. und Witt P. N., Die Rattenschwanzsehne als Testobjekt für adstringierende Wirkung.
Arch. exp. Path. Pharm. 215, 469 (1952).

30. Witt P. N., Der Einfluß des Strophantins auf den Kaliumaustritt aus dem mit verschiedener Frequenz arbeitenden Frosch-Sartorius-Muskel.
Helv. Physiol. Acta 13, C 43 (1955).

Curriculum vitae

Mein Heimatort ist Somvix (Graubünden). Ich wurde am 9. Juli 1924 in Leutkirch (Deutschland) geboren. Die Grundschule besuchte ich in Stuttgart, Mittelschulen in Illertissen, Bad Mergentheim, Stuttgart und Leipzig. Im Februar 1944 bestand ich in Leipzig die Maturitätsprüfung. An der dortigen Universität begann ich im Frühjahr 1944 das Medizinstudium, das ich seit Herbst 1944 an der Universität Bern fortsetzte. Die propädeutischen Examina bestand ich Herbst 1945 und Frühjahr 1947, das Staatsexamen im Sommer 1951.

Danach war ich während insgesamt eines Jahres in Praxisvertretungen tätig und leistete Militärdienst. Von Mai bis September 1953 ermöglichte mir ein Stipendium der Ciba AG die Weiterführung der im Frühjahr 1952 begonnenen Arbeit an der vorgelegten Dissertation. Von Oktober 1953 bis Oktober 1954 war ich Assistent am Anatomischen Institut Bern, seit Oktober 1954 arbeite ich als Assistent am Pharmakologischen Institut der Universität Bern.